

# NOUVELLE RÉACTION SÉROLOGIQUE DANS LA LÈPRE

(COMMUNICATION VI)

Par le Dr. Miguel C. Rubino  
(Montevideo)

Le présent travail, qui se rapporte à une réaction trouvée dans les sérums lépreux, est basé sur un phénomène d'agglutination et de sédimentation de globules formolés, spécialement avec ceux de moutons, réaction qui est spécifique dans la Lèpre, au sens que ce terme a dans les réactions biologiques connues.

Cette spécificité dans la Lèpre et les faits fondamentaux de mes travaux ont été confirmés par les professeurs Marchoux et Caro de l'Institut Pasteur de Paris. ("Annales de l'Institut Pasteur", T. XIII, N.º 5). (\*)

J'ai commencé mes travaux, qui eurent comme origine l'étude de méthodes de désensibilisation dans la R. de Bordet Wassermann, au commencement de 1926. Les premiers résultats furent exposés à la Sociedad de Dermatología y Sifilografía de Montevideo en juin 1926.

Quelques jours après, je fis quelques démonstrations dans le Laboratorio Central del Instituto Profiláctico de la Sífilis en présence du Directeur de ce Laboratoire, et de quelques professeurs et dermatologues. Les sérums me furent remis numérotés, sans aucune indication de l'origine et provenants des Hôpitaux et Polycliniques de notre ville. Les résultats réussirent au sens que les réactions positives correspondirent seulement à des sérums lépreux, remis par divers dermatologues, quoiqu'on eût soumis à la même épreuve des sérums des maladies plus variées: syphilis en activité, tuberculose en activité, maladies de la peau, anémies, etc.

Postérieurement, je présentai une deuxième communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo (REVISTA MÉDICA DEL URUGUAY, T. XXIX, N.º 9), apportant un plus grand nombre d'éléments de jugement et quelques modifications à la technique.

(\*) NOTE IMPORTANTE: Quelques mois après notre deuxième communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo, nous avons fait deux communications à la Sociedad Argentina de Biología (7 octobre 1926) et de Dermatología de Montevideo (novembre 1926) en exposant l'influence de quelques facteurs sur la réaction et en établissant aussi les conditions qui distinguent la réaction des sérums lépreux de celle des hétéro-agglutinants qui peuvent être prises par des positives.

Nous regrettons que —dû à la difficulté avec laquelle la diffusion de nos publications se réalise— elle ne soient pas connues par les Prof. Marchoux et Caro.

Au mois de septembre 1926, j'ai visité la République Argentine où j'ai pu continuer mes investigations dans l'Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene, en utilisant le matériel de l'Hôpital Muñiz et les conseils du Dr. Sordelli. Les résultats de ces investigations furent exposés dans la Sociedad Argentina de Biología le 7 octobre 1926 et publiés dans la Revue de la même Société (An II, N.º 6) et dans les Comptes Rendus de la Société de Biologie (Paris) en 1927 (N.º 3).

Au mois de novembre 1926 j'ai présenté ma quatrième communication à la Sociedad de Dermatología y Sifilografía de Montevideo (REVISTA MÉDICA DEL URUGUAY, Seccional de Dermatología y Sifilografía, 1927).

Dernièrement, j'ai présenté ma cinquième communication à la Sociedad de Biología de Montevideo.

Au mois de mai 1928 les professeurs Marchoux et Caro, de l'Institut Pasteur de Paris, publièrent un travail, confirmant les notions fondamentales établies par moi et attribuant une valeur spécifique à la Réaction. ("Annales de l'Institut Pasteur", T. XLII, 1928, N.º 5).

## DESCRIPTION DE LA RÉACTION

### *Première technique*

(Présentée à la Sociedad de Dermatología y Sifilografía et à la Sociedad de Medicina de Montevideo).

*Mode d'opérer:* On prend:

1.º Des sérums inactivés et non-inactivés des malades en examen.

2.º Suspension de globules formolés de mouton, préparés de la manière suivante: On lave d'abord bien les globules avec de l'eau physiologique au 8 ½ par mille comme pour le Wassermann. Après les avoir complétés à leur volume original de sang, on y ajoute le 10 % de formaline en mélangeant bien et les laissant pendant 24 heures à la température du milieu. Après cela, on fait le lavage des globules rouges formolés avec du sérum physiologique au moins 4 fois et on les complète au double volume avec du sérum physiologique. Il est absolument nécessaire, dans tous ces lavages, incorporer bien les globules rouges au sérum de manière qu'il en résulte une suspension homogène.

Après cela, on mêle un centimètre cube de sérum avec un centimètre cube de suspension globulaire. On agite et on le met à l'étuve à 37º.

La lecture finale des résultats, on la fait après une heure, mais les réactions positives ont lieu toujours avant ce terme, en général entre 10 et 30 minutes.

*Caractéristiques des réactions positives.* — Le mélange du sérum avec la suspension globulaire, donne, normalement, une suspension opaque, de couleur châtaigne, très durable. Au bout de quelques heures on voit la sédimentation spontanée, en observant la descente graduelle de la masse globulaire avec une limite supérieure bien définie laissant voir une couche liquide parfaitement clarifiée dans sa partie supérieure.

Quand la réaction est positive, souvent après quelques minutes d'étuve à 37° et toujours avant l'heure, on observe une altération bien visible de la suspension, consistant en l'apparition d'une floculation qui s'accroît rapidement, en même temps qu'on observe la descente des globules, suivie de la clarification du liquide.

Au bout de quelques minutes on observera au fond du tube un culot obscur, formé par des globules sédimentés et sur lui le sérum, plus ou moins complètement limpide. C'est un phénomène parfaitement défini et facile à remarquer qui contraste avec l'homogénéité et la stabilité des suspensions dans les réactions négatives.

*Contrôles.* — Après ma deuxième communication nous fîmes l'observation que la sédimentation des globules formolés pouvait se présenter dans quelques sérums hors de la Lèpre. Mais dans ces cas, il faut l'attribuer à l'existence d'un pouvoir hétéro-agglutinant qui se présente, comme nous verrons plus tard, en certains cas pathologiques et qui se fait bien visible avec les globules naturels de mouton. Pour écarter ces sérums, il suffit prendre un autre tube dans la réaction, utilisant au lieu de la suspension des globules formolés une suspension de globules naturels. Les sérums simplement hétéro-agglutinants sédimentent ces globules avec la même ou plus d'intensité que les globules formolés.

Pour effectuer la réaction avec ces contrôles, il est nécessaire utiliser le sérum inactivé pour éliminer le complément afin d'éviter l'hémolyse des globules naturels.

## TECHNIQUE ACTUELLE

Quelques mois, après avoir commencé nos expériences nous pouvions, par des travaux réalisés dans la République Argentine et continués dans notre pays, travaux, dont j'exposerai plus tard les résultats, introduire quelques modifications dans notre réaction afin de la sensibiliser et lui assurer une valeur spécifique avec le but d'écarter les sérums hétéro-agglutinants. Les fondements de ces mo-

difications figurent dans les communications Ns. 3 et 4 (Sociedad de Biología Argentina, 7 octobre 1926 et Sociedad de Dermatología de Montevideo, novembre 1926).

*Eléments nécessaires*

1.<sup>o</sup> *Sérum en examen.* — Quoique la réaction ait lieu avec du sérum non-inactivé, comme il fut décrit d'abord par moi, on a besoin d'un sérum inactivé pour l'usage des tubes-contrôles avec des globules naturels. Nous inactivons le sérum à 55-56° pendant 20-25 minutes sans laisser monter la température jusqu'à 56°. Dans ces conditions, selon différentes expériences que nous avons réalisées, les sérums ne perdent aucune activité.

Il convient que les sérums — quoiqu'ils conservent leur propriété pendant quelques jours — soient frais. Les professeurs Marchoux et Caro ont constaté que les sérums faibles perdent leur activité en 7 jours dans la glacière et en 4 jours dans la température du milieu. Nous-mêmes, nous avons constaté parfaitement la diminution de l'activité à cause de vieillissement, les réactions se faisant peu nettes.

2 centimètres cubes de sérum suffisent à peu près pour la réaction.

2.<sup>o</sup> *Globules formolés.* — On peut les préparer de la même manière que nous avons décrite dans la technique antérieure, c'est à dire, lavage des globules naturels comme pour le Wassermann, formolation au 10 % pendant 24 heures et lavage ultérieur avec du sérum physiologique. Mais il faut remarquer que les globules formolés au 10 % dans leur volume original, tendent, après 24 heures, à se prendre en une masse gélatineuse qui les fait absolument inutilisables. C'est pourquoi nous préférons maintenant la technique suivante:

Les globules naturels, après un lavage intense, sont portés à leur double volume avec une solution physiologique et au total du volume on ajoute le 10 % de formol. Exemple: globules naturels lavés 10 c.c., solution physiologique 10 c.c., formol 2 c.c. On agite bien. Dans ces conditions, les globules sont parfaitement formolés au bout de 24 heures ou moins et ils peuvent être conservés pendant plusieurs jours; on lave seulement la quantité nécessaire pour les réactions du jour. Les globules formolés se conservent aussi après le lavage 2-3 jours, mais ils s'inutilisent graduellement. Il n'est pas recommandable d'opérer avec des globules formolés après deux jours de leur lavage.

La richesse globulaire a une grande importance dans la réaction, comme nous l'avons exprimé dans nos communications antérieures, et en général nous recommandons une suspension dans du

sérum physiologique qui correspond au double du volume initial. De considérables différences peuvent se présenter selon l'origine des globules, quoiqu'on prenne la précaution de ne pas entraîner des globules dans les lavages. En effet, il y a des différences appréciables dans la richesse globulaire des différents animaux et cette différence est très considérable entre les animaux soumis à des saignées fréquentes comme ceux qu'on a dans les laboratoires pour le Wassermann et les animaux des abattoirs. Dans ceux-ci le nombre des globules rouges est toujours supérieur aux premiers. La richesse appropriée dans les proportions avec lesquelles nous travaillons actuellement est de 4.000.000 par millimètre cube. Si on désire renoncer à la numération globulaire on peut opérer avec le double volume initial pour les globules qui proviennent d'animaux saignés fréquemment et avec le triple volume initial pour les globules des animaux d'abattoirs.

3.<sup>o</sup> *Globules naturels.* — Les globules naturels sont lavés avec une solution physiologique comme pour le Wassermann. Il est à préférer qu'ils soient de la même origine que ceux qu'on utilise pour la formulation ce qu'on peut obtenir si l'on dispose de moutons dans le laboratoire, parce que dans ce cas on écarte de probables facteurs individuels qui peuvent influencer d'une manière différente sur la réaction. Il faut que les globules soient frais. Après le lavage on complète le volume au titre des globules formolés.

4.<sup>o</sup> *Mode d'opérer.* — La réaction complète comprend six tubes, trois pour la série de globules formolés et trois pour la série de globules naturels.

Tubes . . . . .	1	2	3	4	5	6
Sérum en examen . . . . .	0.5	0.3	0.1	0.5	0.3	0.1
Solution Physiologique . . . . .	0.3	0.5	0.7	0.3	0.5	0.7
Suspension de globules formolés	0.2	0.2	0.2	—	—	—
Suspension de globules naturels .	—	—	—	0.2	0.2	0.2

D'abord on met le sérum en examen et après la solution physiologique qui égale les volumes; on agite et on ajoute ensuite les suspensions globulaires. De cette manière on évite que les globules se mettent en contact direct avec le sérum pur.

Agiter bien et mettre les tubes à l'étuve à 37°.

*Lecture des résultats*

On peut commencer les lectures après 20 minutes, faire une deuxième lecture après 30 minutes et la finale après une heure.

Comme nous l'avons dit, la plupart des sérums lépreux donnent la réaction avant une demi-heure, mais il y en a qui peuvent la

donner ou se faire plus visibles un peu plus tard. Sans compter l'activité du sérum, la richesse de la suspension globulaire a une grande influence sur le temps indiqué.

*Les fortes réactions positives se caractérisent par une sédimentation complète dans les trois tubes de globules formolés avec le liquide surnageant clair; les réactions faibles se caractérisent par une sédimentation complète ou presque complète dans le premier tube, partielle dans le deuxième tube et plus légèrement partielle dans le troisième. L'apparition d'un petit culot uniforme dans les trois tubes de globules formolés ne constitue pas d'indice d'une réaction positive, mais correspond à la sédimentation spontanée. Ces observations sont d'une grande importance pour travailler avec le schéma que nous venons d'exposer; en cas de doutes, on pourra travailler, au commencement, pour acquérir l'expérience, avec des suspensions globulaires plus riches, par exemple ajoutant 1 ½ ou deux fois la quantité de suspension indiquée dans le tableau. De cette façon, les réactions positives sont plus frappantes parce que, dans cette condition, la sédimentation spontanée est moins visible, dû à l'opacité plus grande du mélange. On compense le surplus de suspension globulaire, en diminuant l'eau physiologique qui égale le volume.*

Pour la lecture finale on observera la conduite suivante:

1.º Toute réaction dans laquelle la sédimentation se produit seulement dans les tubes des globules formolés, est *positive*.

2.º Si la sédimentation se produit dans les trois tubes des globules formolés quoique la sédimentation apparaisse dans le premier tube (N.º 4) de globules naturels, la réaction est *positive* aussi.

3.º Si la sédimentation apparaît avant ou en même temps, dans la série des globules naturels que dans les tubes des globules formolés, la réaction est *négative*.

Nous donnons ces normes schématiques pour faciliter l'interprétation des résultats, qui se sont montrés suffisants, jusqu'à ce jour, pour nos examens. *Mais nous insistons que le fait fondamental qui sépare les sérums lépreux des simplement hétéro-agglutinants, est constitué par le fait que les premiers agglutinent intensivement les globules formolés; quand ils ont une action sur les globules naturels c'est d'un degré toujours inférieur.* Les seconds, au contraire, ont une action remarquable sur les globules naturels et moins intensive ou même aucune (surtout avec les globules du cobaye) sur les formolés. En nous tenant à ces normes, nous n'avons obtenu aucune réaction positive hors de la Lèpre sans prétendre à donner une valeur absolue à notre réaction dont la valeur définitive résultera seulement d'une application plus étendue.

*Lecture invertie.* — Après avoir fait la réaction, quand tous les globules ont déjà sédimenté dans les réactions positives comme dans les négatives, on observe un phénomène intéressant, après quelques heures. Si l'on agite doucement les tubes, ceux de réaction positive donnent un troublement immédiat d'autant plus intensif que la réaction a été positive. Dans les réactions négatives, au contraire, les tubes restent clairs malgré l'agitation. Ce fait a la particularité de faire visibles des réactions faibles qui ne l'étaient pas dans la lecture directe.

Nos résultats, cependant, sont donnés toujours par la lecture directe.

## INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS — ÉTUDE DE LA NATURE DE LA RÉACTION

### *Action de la température sur les sérums*

Selon nos expériences, le chauffage antérieur des sérums à 55-56° pendant 20-25 minutes, n'altère pas la substance spécifique qui produit la réaction.

Des expériences comparatives faites avec des sérums inactivés dans ces conditions et des sérums non-inactivés en dilutions croissantes nous permettent de faire cette conclusion. Comme, actuellement, nous faisons la réaction avec des contrôles de globules naturels pour écarter les sérums hétéro-agglutinants, nous employons systématiquement les sérums inactivés dans les conditions indiquées.

Les professeurs Marchoux et Caro ont fait remarquer que la température de 56° pendant une heure inactive le pouvoir spécifique des sérums lépreux.

### *Action de la température sur la réaction*

La température plus favorable paraît osciller autour de 37° quoique, dans notre climat, les réactions peuvent avoir lieu encore à une température du milieu. Une température de 55-56° trouble la réaction, mais ne détruit pas la substance active.

Pour mettre en relief ces faits, on doit opérer dans des conditions très précises et porter tous les éléments du système d'abord à cette température. Si nous mettons, par exemple, des sérums lépreux et la suspension appropriée de globules formolés au bain-marie à 55° et si on les mélange après quelques minutes dans les proportions convenables en laissant le mélange à la température de 55°, la réaction ne se produit pas. Mais si nous retirons le mélange et si nous le mettons à 37°, la réaction se produit.

*Influence des proportions relatives des éléments du système*

Au commencement, j'ai travaillé, en général, avec 1 c.c. de sérum et 1 cc. de suspension globulaire premièrement formolée et portée à son double volume initial avec du sérum physiologique. Mais dans mes derniers travaux j'ai constaté que la richesse globulaire variait beaucoup d'une opération à l'autre et que ces variations eurent une influence marquée sur la marche de la réaction. J'ai établi que les suspensions se doivent employer dans une proportion qui n'excède pas de 4.000.000 de globules par millimètre cube ce qui résulte si on complète le volume initial à trois fois des animaux pas saignés, avec le sérum physiologique. Si on ne fait pas la numération avant, nous conseillons cette méthode de procéder pour éviter la possibilité de ne pas observer les réactions par excès globulaire.

Pour une quantité fixe de sérum, en faisant diminuer progressivement la quantité globulaire, la réaction se sensibilise dans le sens d'une proportion plus grande de positives. Nous opérons de la façon suivante. Trois tubes numérotés de 1 à 3 avec 0.50 c.c. de sérum chacun d'eux au premier on ajoute 0.35 c.c. de suspension globulaire, au deuxième 0.25 et au troisième 0.15, et nous complétons ensuite les volumes avec du sérum physiologique. Dans ces conditions nous obtenons avec les sérums lépreux une proportion plus grande de positives.

En opérant avec les mêmes volumes de suspension globulaire et de quantités décroissantes de sérum, le phénomène se produit dans quelques sérums même avec  $\frac{1}{8}$  qui donne la proportion de  $\frac{1}{16}$  pour le volume total. Nous opérons dans les conditions suivantes: (Trois tubes, avec 0.25 c.c. de suspension globulaire), dans chacun d'eux dans le premier 0.50 de sérum, dans le deuxième 0.25 et dans le troisième 0.125. Nous complétons les volumes à 1 c.c. (de manière que les proportions de sérums soient de  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$  et  $\frac{1}{8}$  respectivement). Dans ces conditions, les réactions positives se produisent généralement dans les trois tubes mais toujours dans les deux premiers.

Nous devons mettre en relief un fait, à notre avis, très important: Quoique dans la première manière d'opérer, c'est à dire, avec des quantités décroissantes de globules, le nombre de réactions positives augmente dans le troisième tube et dans la deuxième méthode d'opérer, avec des quantités décroissantes de sérums, le nombre plus grand de positives se produit dans les deux premiers tubes, ces proportions ne représentent pas l'optimum pour la production du phénomène. En effet: dans le premier schéma pour les réactions franches, le phénomène se produit presque d'une façon générale, d'abord dans les deux premiers tubes et ensuite dans le troisième.

Le plus grand nombre de positives dans le troisième tube se rapporte toujours à des réactions lentes. Cette manière de se prononcer est tellement régulière que quand on observe la production rapide du phénomène dans le troisième tube — on doit penser toujours qu'on est en présence d'une suspension globulaire non appropriée. Quelque chose d'analogue se passe dans le deuxième dispositif quoique pas avec la même régularité. Vis-à-vis du même volume de suspension globulaire, la réaction est quelque-fois plus précoce avec les quantités plus petites de sérums, quoiqu'au fin le total des positives soit plus grand dans les tubes qui ont plus de sérum. Ces faits mettent bien en relief l'influence des proportions relatives des éléments en présence. Ce phénomène est compris aux lois de la réaction de colloïdes entre eux et la floculation ressemble bien à celle qui se produit entre les toxines et les antisérums. Ce phénomène fait aussi penser que, si on utilise une échelle étendue de proportions et si on opère dans ces conditions très précises de température initiale et pendant l'expérience, on peut obtenir pour chaque sérum une valeur spéciale qui sera l'index d'agglutino-sédimentation, élément très intéressant s'il résultât pour étudier la possibilité d'oscillations humorales dans une maladie d'une évolution si prolongée comme la Lèpre.

#### *Influence de l'état de formolation des globules*

La première question qui se présenta à nous était, si la réaction pouvait réussir aussi avec les globules à l'état naturel et si elle ne serait plus sensible à cause de l'altération que le formol produit, fixateur par excellence des tissus animaux ce qui pourrait avoir comme conséquence le ralentissement du phénomène ainsi comme il évite l'hémolyse des globules.

En opérant dans les conditions appropriées nous avons prouvé que la réaction est liée à la condition du formolé et qu'elle ne se produit pas en général avec les globules à l'état naturel, non plus si on ajoute au système du formol une quantité en proportions croissantes, qui supèrent en beaucoup le calcul théorique du formol que les globules formolés pourraient retenir dans leur stroma. *Cette conduite différente vis-à-vis des globules formolés et naturels est la caractéristique principale des sérums lépreux.* Opérant avec 3 tubes avec des quantités fixes de globules et décroissantes de sérum selon les conditions que nous venons d'exposer pour les globules formolés, on ne peut voir qu'exceptionnellement l'agglutino-sédimentation des globules naturels dans le premier tube, et nous ne l'avons jamais observé d'une façon définitive dans les deux autres tubes et quand elle s'y produit, elle est toujours plus lente et moins complète.

Dans les sérums non-lépreux, au contraire, qui ont présenté la réaction positive, sept cas jusqu'à présent, l'agglutination des

globules naturels a été toujours plus précoce et plus intensive qu'avec les formolés de manière qu'elles se sont produites souvent avant la termination de la réaction et quelquefois se produit un block globulaire qui ne se désagrège pas par simple agitation. Il semble que, hors de la Lèpre, la réaction des globules peut se présenter par extension et non qualitativement, étant plutôt l'expression d'un pana-glutinisme que le formol ne peut pas éviter quoique nous ayons constaté quelques cas dans lesquels, malgré un fort agglutinisme pour les globules naturels, le phénomène ne se présenta pas avec les formolés.

L'individualité ovine semble avoir une grande influence sur la conduite des globules naturels parce que nous avons constaté que cela s'observe plus fréquemment avec certains globules selon l'origine. Chez cinq moutons de l'Instituto Bacteriológico nous avons observé que le sérum N.º 93 agglutinait les globules naturels du mouton N.º 2 et qu'il n'agglutinait pas, cependant, ceux des autres moutons. A l'Uruguay, j'ai observé le même fait.

L'existence de groupes sanguins dans les moutons est vraisemblable comme Bialosuknia et Kaczkowski l'ont affirmé qu'ils semblent n'avoir pas d'importance pratique, à cause de la conduite différente comme nous l'avons déjà exprimé.

Les professeurs Marchoux et Caro (V. le travail cité) étudiant l'action du formol en concentrations différentes sur les sérums lépreux sont arrivés à la même conclusion, c'est à dire, que la sédimentation ne se doit pas à une action directe du formol.

#### *Influence du degré de la formolation des globules*

Dès mes premières expériences j'ai pu me convaincre qu'il fallait certain degré de formolation afin que la réaction se produit, ce qu'on obtient par l'action de la formoline au 10 % pendant 24 heures de manière que les globules furent parfaitement fixés et ne s'hémolysèrent pas dans l'eau distillée. Cette fixation, nous l'avons obtenue par la formoline au 5 %, mais la laissant actuer plus longtemps; seulement nous avons suivi la technique au 10 % parce qu'elle nous parut plus convenable. La formolation au 10 % dans la forme exposée par nous-mêmes sur le volume de suspension globulaire normale, ne se peut pas porter à plus de 24-48 heures parce que les globules tendent à se prendre en une masse gélatineuse et les suspensions, après le lavage, ne sont pas homogènes. Mais, si au lieu d'opérer sur le volume original, dans la forme indiquée d'abord par nous, nous ajoutons après 24 heures de formolation au 10 % le même volume de sérum physiologique et si nous complétons d'abord la suspension globulaire à son double volume avec le sérum physiologique ajoutant ensuite le 10 % de formoline, alors nous pouvons faire actuer le formol plus longtemps, sans que l'al-

tération indiquée apparraise, ce qui permet étudier parfaitement l'influence de l'intensité de formolation. Nous avons observé des suspensions globulaires sous l'action du formol au 10 % pendant plus d'un mois sans remarquer une altération. La condition absolument nécessaire est que les globules soient d'une extraction récente e d'abord bien lavés avec la solution physiologique avant d'y ajouter le formol. La présence de sérum, aussi en petites quantités, altère la suspension.

Nous avons étudié l'influence de l'intensité de la formolation sur la réaction en quelques sérums lépreux.

#### *Conditions de l'expérience*

C'est une condition indispensable que les différentes suspensions contiennent le même nombre de globules rouges par mm.<sup>3</sup>, parce que la richesse globulaire a une influence très marquée sur la sensibilité de la réaction, comme nous l'avons déjà dit.

Suspension N.º 1—Globules de mouton lavés et complétés à leur volume normal . . . . .	10 c.c.
Formol . . . . .	1 "
24 heures et après lavage	
Suspension N.º 2—Globules rouges dans les mêmes conditions . . . . .	10 c.c.
Solution physiologique . . . . .	10 "
Formol . . . . .	2 "
24 heures et après lavage	
Suspension N.º 3—Globules rouges dans les mêmes conditions . . . . .	5 c.c.
Solution physiologique . . . . .	15 "
Formol . . . . .	4 "
Suspension N.º 4—Globules rouges dans les mêmes conditions . . . . .	10 c.c.
Formol . . . . .	2 "
Solution physiologique . . . . .	10 "
41 jours de formolation et après lavage.	

Nous avons fait la numération globulaire de toutes les suspensions et les égalâmes à 5.000,000 par mm. cube.

Nous usons les Ns. 21 et 38 de l'Enquête sur la Lèpre comme sérums lépreux, dilues au  $\frac{1}{4}$  avec une solution physiologique.

*Schéma pour chaque sérum et suspension globulaire*

Tubes . . . . .	1	2	3	4
Sérum dilué au 1/4 . . . . .	0.8	0.6	0.3	0.1
Solution physiologique . . . . .	—	0.2	0.5	0.7
Suspension globulaire . . . . .	0.2	0.2	0.2	0.2

*Tableau résumant les résultats*

Le nombre des x indique l'intensité de la réaction.

Tubes	Sérum 21				Sérum 38			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Suspens. 1	xxxx	xxxx	xxx	x	xxx	xx	x	—
" 2	xxxx	xxxx	xxxx	xx	xxxx	xxxx	xx	x
" 3	xxxx	xxxx	xxxx	xx	xxxx	xxxx	xx	x
" 4	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xxxx	xx

De la lecture du tableau résulte clairement la supériorité des suspensions 2 et 3 sur 1, et la supériorité du numéro 4, qui a 41 jours de formolation, sur les autres trois. Donc, le temps de formolation favorise la réaction et la sensibilise.

*L'influence de l'espèce.* — Ce qui nous venons d'exposer se rapporte seulement aux globules de l'espèce ovine. Quant aux autres espèces, il y a beaucoup de discordances entre eux et l'ovine et vis-à-vis du formol. Il y a des espèces qui se fixent bien et d'autres qui se fixent mal. Les humains, ceux du cobaye et du lapin se fixent mal, ceux du pigeon, lama, chèvre et bovines se fixent bien. La conduite dans la réaction est différente aussi.

Les premiers que nous avons examinés furent les humains d'une origine déterminée; les réactions se produisirent régulièrement avec des globules formolés et furent négatives avec les naturels, tandis qu'avec des globules d'une origine différente, les réactions furent aussi positives avec des globules naturels. Ce fait peut s'interpréter facilement par les groupes sanguins. Afin d'étudier la conduite des globules de cette espèce, il faut considérer ce facteur décisif. Les globules de lama présentèrent des résultats concordants avec ceux de moutons, quoique les agglutinations naturelles sont plus fréquentes. Parmi les globules de bovins, seulement les formolés sont agglutinés. Nous n'avons observé aucune agglutination pour les naturels; le nombre des résultats positifs est inférieur à celui des moutons; avec ceux de chèvre s'offrit le fait important, qu'aucune réaction positive ne se produit. Il faut remarquer, cependant, que les suspensions de globules de cette espèce sont beaucoup plus stables que celles des autres dû au petit diamètre des erythrocytes

quoique nous ne pensons pas que cette circonstance puisse avoir une grande influence parce que la surface se trouve augmentée et par cette raison il semble que le phénomène devrait se produire plus intensivement, surtout dans sa phase d'agglutination.

Les globules de cheval, lapin et cobaye doivent, pour être fixés, être complétés à leur double volume initial après le lavage, en y ajoutant le 10 à 15 % de formol avec une permanence de 24 heures. Presque la totalité des sérums humains présentent des agglutinines pour ces espèces globulaires.

Il faut remarquer spécialement la conduite des globules du cobaye. En effet: Diverses expériences m'ont montré que la plupart des sérums humains agglutinent les globules naturels de cette espèce, *tandis que les formolés son seulement agglutinés par les sérums lépreux. Cela prouve clairement que les globules naturels et formolés peuvent être influencés par des substances ou propriétés différentes des sérums et dans les sérums lépreux la réaction avec les globules formolés est due à une substance ou propriété spécifique*

#### FREQUENCE DE LA RÉACTION DANS LA LÈPRE

Dans ma communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo, j'ai manifesté que j'avais obtenu sur un total de trente cas 23 réactions positives, c'est à dire, un pourcentage de 76,6 %.

En novembre 1926, j'ai exposé dans la Sociedad de Dermatología de Montevideo, les résultats obtenus en quatre-vingt-douze cas de Lèpre de l'Hospital Muñiz de Buenos Aires. En quatre-vingt-douze cas il y eut soixante-huit réactions positives ce qui représente un pourcentage de 74 % et une proportion générale de 75 %.

Postérieurement, dans l'année courante, nous avons examiné un nombre abondant, grâce à l'amabilité de quelques dermatologues, spécialement du Dr. Rodríguez Guerrero, Chargé de l'Enquête sur la Lèpre dans notre pays par le H. Consejo Nacional de Higiene.

Je passe maintenant à exposer les résultats obtenus avec la technique actuelle communiquée à la Sociedad de Dermatología en novembre 1926 que j'indique dans le présent travail avec de légères altérations.

#### Résultats de la réaction. — Sérums de Lèpre confirmée

Sérums	Réaction	Sérums	Réaction
B. V. H. F. Ferreira	Positive	C. H. H. F. Ferreira	Négative
A. C. "	Positive	M. C. "	Positive
M. S. "	Positive	A. Ch. "	Positive
W. M. "	Positive	B. "	Positive

Sérums	Réaction	Sérums	Réaction
A. U.	Positive	S. S.	Positive
T. G.	Douteuse	P. B.	Positive
L. Polic. H. Maciel	Positive	P. M.	Positive
M. C.	Positive	E. B.	Positive
T. A. H. Pasteur	Négative	A. B.	Positive
M. C. G.	Positive	A. G. M. H. F. Ferr.	Positive
Ad. M. H. F. Ferreira	Positive	E. S.	Positive
E. C. (Salto)	Positive	A. B. (Paysandú)	Positive
G. Q. H. Pasteur	Positive	M. L. (Salto)	Positive
J. P. (Paysandú)	Positive	T. T. de T. (Salto)	Positive
H. R.	Négative	B. F.	Positive
A. T. (Salto)	Positive	A. P. (Salto)	Positive
G. M. (Montev.)	Positive	E. P. (Salto)	Négative
D. P. (Salto)	Négative	J. B. (Montevideo)	Positive

### Résumé:

Sur 38 sérums de Lèpre confirmée, 32 réactions positives, 1 douteuse et 5 négatives, c'est à dire, un pourcentage de 84.2 % de positives. Parmi les 5 cas négatifs il y a trois de l'intérieur du pays dont les sangs furent remis par la poste, ayant passé quelques jours avant que la réaction fût réalisée.

### LA RÉACTION EN D'AUTRES CAS PATHOLOGIQUES

Dans ma deuxième communication à la Sociedad de Medicina de Montevideo j'ai communiqué que nous n'avions trouvé aucune réaction avec les caractères que j'ai décrits pour la Lèpre, sur un total approximatif de 800 sérums examinés jusqu'à ce jour.

Entre ces sérums figuraient les maladies plus variées: tuberculose en activité, syphilis en activité, des anémies graves, urémies, intoxications, maladies de la peau, etc.

Postérieurement, par l'application systématique de ma technique spéciale dans la déviation du complément pour la syphilis qui consiste en la désensibilisation et décomplémentement des sérums par les globules formolés (travail présenté à la Conferencia Sudamericana de Microbiología e Higiene, Buenos Aires, 1926), j'ai examiné un total approximatif de 2,000 sérums et nous n'avons observé aucune réaction positive, hors de la Lèpre. Quand l'agglutino-sédimentation des globules formolés apparut dans quelque sérum—ce qui se produit exceptionnellement—nous prouvions toujours que c'était dû à un phénomène d'hétéro-agglutination. Le Dr. Bacigalupo dans la République Argentine et moi à l'Uruguay, nous avons remarqué le fait inté-

ressant que dans quelques états pathologiques, spécialement dans les fractures et les contusions, des hétéro-agglutinines apparaissent pour les globules de moutons et d'autres espèces (Communication à la Sociedad de Biología de Montevideo).

#### VALEUR DES DIFFÉRENTES RÉACTIONS SEROLOGIQUES DANS LA LÈPRE

Après la découverte de Bordet Gengou et son application par Wassermann et ses collaborateurs au diagnostic de la syphilis, beaucoup de travaux furent publiés sur le sérodiagnostic de la Lèpre par la déviation du complément. Bientôt on put prouver le grand pouvoir de déviation du complément par les sérums lépreux vis-à-vis de différents antigènes ce qui a fait dire à Jeanselme que les sérums lépreux sont polyfixateurs. Il a été prouvé par beaucoup d'investigateurs que les sérums lépreux dévient intensivement le complément vis-à-vis des antigènes aussi variés que les suivants: Syphilitique, tuberculeux, carcinomateux, etc., ce qui leur ôte toute valeur spécifique.

Parmi les travaux qu'il faut nommer, on doit citer spécialement ceux d'Eitner et de ses collaborateurs qui ont prouvé la grande valeur antigène des extraits de lépromes et qui obtinrent un haut pourcentage, quelquefois presque la totalité des réactions positives avec des sérums lépreux.

Postérieurement, Jeanselme et Vernes, dans une étude de critique expérimentale, arrivèrent à la conclusion que la réaction d'Eitner est aussi positive dans un grand pourcentage dans la syphilis (33 sur 44), et quelquefois elle est négative dans des cas de Lèpre maculoanesthétique. Il n'est pas douteux que la réaction perd ainsi presque toute sa valeur, parce que le grand intérêt est précisément d'obtenir une réaction qui dénonce spécifiquement la Lèpre en la séparant de la syphilis où cette maladie co-existe ou en la différenciant où il y a des doutes lesquelles se présentent très fréquemment dans les périodes initiales et aussi avancées des formes nerveuses.

Ceci est un point où notre réaction se montre supérieure aux méthodes précédentes parce qu'elle est positive dans beaucoup de cas de Lèpre où le Wassermann est négatif. En un mot: Elle n'est pas correlative aux méthodes de déviation du complément, contrairement aux réaction d'Eitner et Bordet Wassermann qui donnent des résultats concordants dans la syphilis comme dans la Lèpre quoiqu'on emploie des antigènes complètement différents.

## CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA NATURE DE LA RÉACTION

*Quelques propriétés des sérums lépreux. — Pouvoir floculant. Son parallélisme avec la réaction des globules formolés*

Désireux d'expliquer la nature de la réaction, nous avons fait un grand nombre d'expériences basées sur deux points de vue:

1.<sup>o</sup> Si un antigène spécial existe dans les globules de mouton auquel on doit la réaction.

2.<sup>o</sup> Si les globules seraient simplement le support et si les mêmes résultats pourraient s'obtenir avec d'autres supports organiques formolés ou non.

Suivant les indications du Dr. Sordelli, j'ai préparé quelques extraits de globules rouges et d'organes de cobaye selon la technique indiquée pour l'étude des antigènes de Forsman (1 gr. de globules ou d'organe frais pour 10 c.c. d'alcool à 95° extrait par la chaleur à 55° pendant plus de 12 heures). Ensuite on l'évapore dans une capsule ou boîte de Petri à l'étuve. On reprend alors l'extrait sec avec la solution physiologique en telle proportion qu'il en résulte une opalescence habituelle comme celle qui s'utilise pour les réactions de floculation de lipoïdes.

*Schéma de l'expérience*

	Tube N.° 1		Tube N.° 2	
Suspension d'antigène	1	c.c.	1	c.c.
Sérum en examen	0.1	c.c.	0.2	c.c.

Parmi les différentes expériences réalisées nous citons les suivantes:

*1ère. Expérience:* Avec extrait de rate. 5 sérums lépreux et trois non lépreux. Des 5 lépreux 3 avec réaction aux globules formolés positives et 2 négatives.

Résultats: Seulement les trois sérums positifs avaint floculé après 4 heures. Après 24 heures ils s'étaient clarifiés par sédimentation du floculé, les autres 5 ne floculèrent pas.

*2ème. Expérience:* Avec extrait de rate. Trois sérums syphilitiques avec Bordet-Wassermann positifs ne floculèrent pas.

*3ème. Expérience:* Avec des extraits globulaires de mouton et cobaye, séparément. Nous avons utilisé 5 sérums, 4 lépreux et un non-lépreux. Des 4 premiers 3 positifs aux globules formolés et 1 négatif. Les deux extraits floculèrent seulement avec les trois sérums positifs aux globules formolés.

*4ème. Expérience:* Avec culture en gélose de B. Proteus -X 19, suspension en solution physiologique, formolisation au 5 %, après lavage et suspension en solution physiologique.

Schéma: Suspension de Proteus . . . . .	0,5 c.c.
Sérum en examen . . . . .	0,5 c.c.

Nous avons utilisé 4 sérums lépreux, 3 positifs aux globules formolés et 1 négatif. Des 3 premiers floclèrent 2 intensivement, 1 faiblement et le dernier (négatif) n'agglutinait pas.

5ème. *Expérience*: Avec culture vive de Proteus X 19 — suspension en solution physiologique. Dans les mêmes conditions que l'antérieur. Nous avons utilisé 6 sérums, dont 3 étaient lépreux dont 2 étaient positifs aux globules formolés et 1 négatif. Seulement les 2 positifs floclèrent.

*Par ces expériences nous ne voulons pas démontrer que les floclations de ces antigènes ont une valeur spécifique parce qu'ils peuvent être floclés, spécialement les types de Forsman, par d'autres sérums, mais ils montrent bien la haute valeur floclante des sérums lépreux et, se qui est plus intéressant encore, que ce pouvoir floclant est parallèle à la positivité dans la réaction des globules formolés.*

La haute valeur floclante des sérums lépreux se montre aussi avec le péréthynol, dans la réaction de Vernes, produisant un floclé intensif avec clarification par sédimentation, comme le Dr. Moreau et nous l'avons prouvé fréquemment. Cette particularité des sérums lépreux, ne doit pas être étrange à la propriété de dévier le complément vis-à-vis des antigènes aussi variés comme celui de la tuberculose, quelques de la Réaction de B. Wassermann, extraits de lépromes et quelques antigènes hydatiques (Expériences personnelles).

*Les globules formolés épuisent dans les sérums lépreux la substance qui donne origine à la réaction. Influence de la température*

Dans mes investigations réalisées dans l'Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene (R. A.), j'ai pu établir, par una série d'expériences, que les globules formolés en certaines conditions fixent la substance productrice de la réaction dans les sérums lépreux. Ces expériences figurent dans mes protocoles du 13 au 17 octobre 1926 lesquelles nous n'avons pas publiées parce que nous désirons les compléter. Les professeurs Marchoux et Caro, dans le travail cité, arrivent à la même conclusion et c'est à eux sans doute, qu'il correspond la priorité.

Quand même, j'exposerai les résultats de mes expériences qui comprennent aussi l'influence de la température sur le fait biologique:

*Condition de l'expérience*

Sérum lépreux . . . . .	0,5 cc.
Suspension de globules formolés dans le double volume normal . . . . .	1 cc.

Les expériences s'initient à 9° à 37° et à 56°.

J'ai porté les éléments séparément jusqu'à l'équilibre de la température les mélangeant après et les laissant 1 heure dans ses respectives températures. Immédiatement après ils furent centrifugés avec les précautions nécessaires afin qu'ils conservassent la température initiale.

Pour chaque température on fit les deux expériences suivantes:

1.° Rechercher si le liquide surnageant avait conservé la propriété de produire la réaction vis-à-vis d'une nouvelle suspension globulaire.

2.° Si les globules retirés par centrifugation de leur respectives sérums avaient acquis la propriété de s'agglutiner et sédimenter sans nouvelle intervention de sérum lépreux.

Nous avons obtenu résultats suivants:

Pour une température de 37°: a) les sérums restèrent épuisés dans le sens qu'ils ne produisent plus la réaction vis-à-vis d'une nouvelle suspension de globules formolés. b) les culots de globules des centrifugations, incorporés à une solution physiologique se conduirent de la même manière que dans une réaction positive quoiqu'il soit après le lavage.

Pour une température de 9°: Les sérums sont épuisés partiellement.

Pour une température de 56°: Les liquides surnageants retiennent une partie de la substance spécifique et les culots globulaires incorporés au sérum physiologique ne reproduisent pas la réaction ce qui prouve que les globules formolés n'ont pas absorbé la substance spécifique.

Dans les expériences à 56° il faudra écarter l'action fâcheuse de cette température sur la substance spécifique.

Quant aux globules naturels, quand on les met en grande proportion en présence de sérum lépreux, ils absorbent aussi la substance spécifique. (Quelques expériences).

*La réaction ne se produit pas sans la présence d'électrolytes. Influence du chlorure de sodium*

Si nous prenons 1 c.c. de sérum de Lèpre et le mélangeons avec 1 c.c. de globules formolés en laissant se produire le réaction et si ensuite nous centrifugeons, lavant après le culot de globules

formolés 2 ou 3 fois avec de l'eau distillée, les mélangeant bien et le centrifugeant et si ensuite nous incorporons le culot à l'eau distillée, la réaction ne se réalise pas. Mais si nous mélangeons le culot avec la solution physiologique, la réaction positive se répète. Ce fait annonce que les globules formolés ont épuisé la substance spécifique et que la présence d'un électrolyte est nécessaire pour la production de la réaction. (Dans ce cas le chlorure de sodium).

*Nature du phénomène dans les réactions positives. Il s'agit d'une floculation de la suspension globulaire*

Dès mes premières études sur la réaction des globules formolés j'ai observé que la phase de sédimentation est précédée toujours par une première phase d'agglutination ou floculation globulaire bien visible aux parois du tube si on l'agite et aussi pendant la réaction quand la suspension s'est faite déjà plus transparente. Les expériences suivantes semblent prouver ce fait:

*Premier type d'expérience:* Si nous faisons la réaction avec un sérum lépreux, en employant la même richesse globulaire et doses décroissantes de sérum jusqu'à une dilution où elle est négative, après quelques heures (12-24) quand la sédimentation s'est déjà produite dans tous les tubes (positives et négatives), nous observons en agitant légèrement le support, que les tubes de réaction positive se troublent rapidement d'autant plus intensivement que la réaction a été positive. Les tubes négatifs, au contraire, restent limpides avec leur culot globulaire au fond.

Si nous faisons parallèlement une réaction avec un sérum négatif ou non-lépreux, nous observons dans les mêmes conditions que les tubes ne se troublent pas par simple agitation: Les globules sont andhérés les uns aux autres en prenant les caractéristiques d'une pâte.

*Second type d'expérience:* Si nous prenons un sérum lépreux actif, un autre sérum non-lépreux épuisé d'abord par les globules formolés et un sérum non-lépreux et si nous faisons la réaction avec les trois sérums séparément, avec des quantités égales de sérums et de suspension globulaire et si après nous l'exposons à 37° pendant une heure en agitant bien chaque tube afin d'incorporer totalement la masse globulaire et si ensuite nous introduisons chaque système (sérum plus globules) dans les respectifs tubes d'un sédimentimètre, nous observerons au bout de quelques heures que les globules occupent dans le tube de réaction positive une hauteur très supérieure à celle de la masse globulaire des autres deux tubes. Cela prouve évidemment que les globules formolés ont floculé en présence des sérum lépreux et que cette floculation ne se produit pas si elle a été traitée d'abord par les globules formolés.

## RÉACTION DES GLOBULES FORMOLÉS ET LES SÉRUMS HÉTÉRO-AGGLUTINANTS

A première vue, il semblerait que la réaction des globules formolés est l'expression d'un simple hétéro-agglutïnisme, fait plus évident par la qualité des formolés des globules, mais, hors des expériences que nous avons exposées et qui tendent à l'attribuer à l'existence d'une substance spécifique dans la Lèpre, il y a un grand nombre de faits qui les séparent complètement.

Les étero-agglutinines se trouvent fréquemment dans les sérums humains et récemment dans une réunion de la Sociedad de Biología de Montevideo, j'ai mis en relief son existence fréquente et quelquefois en grand degré dans les fractures, spécialement chez les enfants, en rapportant à ce respect des données très intéressantes du Dr. Jean Bacigalupo (Buenos Aires). Hors des fractures on les trouve en beaucoup d'états pathologiques. Nous les avons observés en tuberculose, anémies, etc.

La différence fondamentale qui existe, entre les deux phénomènes est la conduite différente vis-à-vis des globules naturels et formolés de mouton.

Les sérums hétéro-agglutinants se conduisent vis-à-vis des deux systèmes d'une manière diamétralement opposée aux sérums lépreux. Tandis que ceux-ci agglutinent plus intensivement les globules formolés, ceux-là agglutinent plus intensivement les globules naturels et presque dans la totalité des cas, les sérums de lépreux, n'agglutinent pas les globules naturels ou le font très faiblement.

Dans notre 2ème et 3ème communication nous avons indiqué quelques cas de sérums hétéro-agglutinants, parfaitement séparables des sérums lépreux. Ces différences dans la conduite sont encore plus marquées vis-à-vis des globules de cobaye selon nos expériences, parce que jusqu'à présent les globules formolés de cobaye seraient seulement influencés par les sérums lépreux, quoique les sérums humains possèdent plus fréquemment des agglutinines pour les globules naturels de cette espèce.

*Exemple:* Hospital de Niños. — Fracture maléolaire, qui date d'un mois.

Globules de mouton naturels:	Titre d'agglutination	1/10
"    "    "    formolés:	"    "    "	1/5
"    de cobaye naturels:	"    "    "	1/10
"    "    "    formolés:	<i>pas d'agglutination.</i>	

Il faut dire que nous n'avons trouvé aucune réaction de globules formolés hors de la Lèpre, jusqu'à présent, avec les caractéristiques que nous avons décrits pour cette maladie.

## RÉACTION DES GLOBULES FORMOLÉS ET SÉDIMENTATION GLOBULAIRE ACCÉLÉRÉE

Malgré ces faits que nous avons exposés clairement et malgré la nécessité de formoler les globules afin que les réactions positives aient lieu, circonstance qui tend à dévier la réaction du phénomène biologique si étroitement lié à des conditions naturelles comme c'est la sédimentation accélérée et l'auto-agglutination, il est, cependant, difficile de renoncer à une étude comparative en vue que la réaction est un phénomène d'agglutination des globules formolés avec leur sédimentation rapide et il est difficile de le concevoir comme un phénomène isolé, manquant une relation spécifique de l'antigène avec la Lèpre et étant donnée, en outre, la fréquence de la sédimentation accélérée dans le sang du lépreux.

La sédimentation globulaire accélérée étudiée spécialement dans la tuberculose, où elle a acquis une grande valeur jusqu'à ce qu'on l'a prise comme élément important du diagnostic et surtout du pronostic, on l'a trouvée très accentuée en beaucoup de cas pathologiques. Dernièrement, elle fut constatée en quelques cas de Lèpre en France par Gilbert, Tzank et Cabanis.

Les Drs. Claveaux et Rodríguez Guerrero à l'Uruguay trouverent également une sédimentation très accélérée en divers cas de Lèpre, en quelques cas de tuberculose et dans un cas d'urémie. Ce qui attire l'attention c'est la circonstance que l'on attribue l'origine de la sédimentation accélérée à sa coexistence avec une auto-agglutination globulaire, ce qui donnerait une grande ressemblance à ces deux phénomènes.

Mais, est-ce que ce fait constitue un motif suffisant pour identifier les deux phénomènes ou pour affirmer que l'existence de l'un suppose l'existence de l'autre? Nullement.

En effet: 1.<sup>o</sup> La sédimentation accélérée est, qualitativement et quantitativement, un phénomène commun à beaucoup d'états pathologiques d'étiologie très différente: Lèpre, Anémie, Tuberculose, etc.

2.<sup>o</sup> L'agglutino-sédimentation formolée n'est pas toujours correlative et très souvent elle se trouve invertie. L. F. Cas de Lèpre avec une sédimentation accélérée des plus intenses, est un des cas de réaction négative, contrastant avec J. Z. et R. V. de vélocité de sédimentation comparativement très modérée et de réaction positive. En deux cas de tuberculose ce fait est encore plus évident: Un cas de péritonite bacillaire avec une sédimentation si accélérée comme dans les plus intenses de Lèpre, la réaction est négative. En C. cependant, cas de pneumonie bacillaire caséuse, déjà décrit, avec une réaction positive universelle, la sédimentation est presque

nulle au bout d'une heure, la masse globulaire descend seulement 0.2 c.c. d'une hauteur totale de 6 c.c. (Dans l'éprouvette).

3.° L'auto-agglutination qui peut exister comme cause de l'accélération de la sédimentation globulaire, est un phénomène, objectivement et biologiquement différent de l'agglutino-sédimentation formolée, objectivement, parce que l'auto-agglutination est l'exagération d'un phénomène normal (formation de piles de monnaie) et biologiquement, parce que, en général, elle n'obéit pas aux lois de l'iso-et hétéro-agglutinines, quant à la température, absorption, etc., comme le fait l'agglutino-sédimentation formolée.

En résumé: Les deux phénomènes coexistent fréquemment, mais l'un n'est pas l'expression quantitative ni qualitative de l'autre. Il reste, pourtant, à prouver le sens biologique de l'agglutino-sédimentation formolée quoique tout incline à penser en un phénomène de floculation globulaire de valeur spécifique pour la Lèpre par la modification imposée avec le formol, sur les globules rouges.

#### ÉTUDE DES QUELQUES CARACTERES CHIMIQUES ET PHYSIQUES DES SÉRUMS LÉPREUX ET LEUR RELATION AVEC LA RÉACTION DES GLOBULES FORMOLÉS

Ces données furent obtenues en collaboration avec le Prof. Angel Goslino, Directeur de l'Instituto de Química Industrial, et de M. Morel, Adjudant de cet Institut.

##### A) *L'Index Réfractométrique.*

Comme l'index réfractométrique est généralement la mesure de la richesse albuminoïde des sérums (albumines et globulines) nous fîmes la mesure de l'index avec l'intention de rechercher si quelques modifications sensibles se présentaient dans le sérum lèpreux dans un sens ou autre.

Le tableau suivant indique les résultats à 17,5°.

Sérum	Maladie	Réaction -des globules formolés	Index réfractométrique
N.º 1	douteuse	négative	1.3518
" 2	douteuse	négative	1.3510
" 3	Lèpre	positive	1.3518
" 4	Lèpre	négative	1.3538
" 5	Lèpre	positive	1.3531
" 7	Lèpre	positive	1.3530
" 8	Lèpre	positive	1.3540
" 9	Lèpre	positive	1.3511
" 10	Lèpre	positive	1.3536
" 11	Lèpre	positive	1.3550
" 12	Lèpre	positive	1.3521
" 14	Lèpre	positive	1.3581
" 15	Lèpre	douteuse	1.3529
" 18	Lèpre	positive	1.3510
" 19	Lèpre	positive	1.3505
" 20	Lèpre	positive	1.3520
" 21	Lèpre	positive	1.3518
" 24	pas Lèpre	négative	1.3560
" 28	Lèpre?	positive	1.3544
" 33	douteuse	négative	1.3542
" 34	Lèpre	positive	1.3548
" 35	Lèpre	négative	1.3530
" 36	Lèpre	positive	1.3521
" 37	Lèpre?	négative	1.3514

Si nous comparons ces résultats avec l'index donné comme normal, il aurait dans la plupart des sérums lépreux une augmentation sensible dans la troisième décimale, mais sans aucune relation avec l'intensité de la réaction des globules formolés.

B) Cholestérine et esters de cholestérine. (Exprimée en milligrammes par %).

METHODE DE BLOOR HAHN

Sérum	Maladie	R. des globules formolés	Cholestérine	Esters de Cholestérine
N.º 1	douteuse	négative	221	190
" 2	douteuse	négative	266	195
" 3	Lèpre	P. très intensive	177	102
" 4	Lèpre	négative	218	135
" 5	Lèpre	P. franche	241	170
" 6 pas	Lèpre	négative	218	151
" 7	Lèpre	P. franche	241	162
" 8	Lèpre	P. très intensive	140	116
" 9	Lèpre	P. très forte	250	170
" 10	Lèpre	P. très intensive	170	144
" 11	Lèpre	P. faible	146	112
" 12	Lèpre	P. intensive	160	118
" 13 pas	Lèpre	négative	218	156
" 14	Lèpre	P. franche	144	82
" 15	Lèpre	douteuse	225	147
" 18	Lèpre	P. très intensive	160	103
" 19	Lèpre	P. franche	204	97
" 20	Lèpre	P. très intensive	207	103
" 21	Lèpre	P. très intensive	170	118
" 24 pas	Lèpre	négative	183	140
" 26 pas	Lèpre	négative	201	138
" 27	Lèpre	P. très intensive	116	81
" 28	Lèpre	P. très intensive	207	162
" 31	Lèpre	P. très intensive	177	133
" 33	Lèpre?	négative	146	138
" 32	Lèpre?	négative	282	184
" 34	Lèpre?	négative	241	166
" 35	Lèpre	négative	190	120
" 36	Lèpre	P. très intensive	126	78
" 37	Lèpre?	négative	229	141

Résumé: Dans les sérums lépreux, généralement, surtout les fortement positives à la réaction des globules formolés ont la cholestérine totale très réduite.

## RESUME FINAL:

La Réaction des globules formolés, selon la technique que nous avons décrite dans le présent travail *est une réaction spécifique de la Lèpre*, dans le sens que ce terme a dans les réaction biologiques connues. Jusqu'à ce jour, elle est la seule réaction qui a ce caractère dans la Lèpre. Les autres réactions décrites atteignent la lèpre par extension en vue du caractère polyfixateur et hautement flocculant des sérums lépreux, mais elles ne lui sont pas exclusives.

La Réaction des globules formolés est due à une substance des sérums lépreux qui est absorbée par le globules en conditions déterminées suivant les lois de la fixation des anticorps.

La réaction se produit seulement en présence d'électrolytes. (Dans nos expériences le chlorure de sodium).

La sédimentation est due à la flocculation de la suspension globulaire ce qui se montre par l'aspect principalement en grumeaux bien visibles, son volume augmenté et la facilité avec laquelle ils s'incorporent à la masse liquide par simple agitation, en contrastant avec les sérums négatifs en tous ces éléments.

La Réaction est influencée par les proportions relatives de sérum et de globules formolés, ayant pour chaque sérum une proportion optima dans laquelle le phénomène apparaît plus précocement, suivant les lois d'agglutination et flocculation par les anticorps.

Tous ces éléments définissent bien sa nature et la séparent complètement de la sédimentation globulaire accélérée et de l'hétéro-agglutination.

La Réaction des globules formolés diffère aussi de l'hétéro-agglutination globulaire par la manière opposée de se conduire vis-à-vis des globules naturels et formolés des moutons et cobayes.

La réaction diffère aussi de la sédimentation globulaire accélérée hors des éléments déjà indiqués parce que ce phénomène est, qualitativement et quantitativement, commun à beaucoup d'états pathologiques d'étiologie différente.

Dans les sérums lépreux l'index réfractométrique a en général, augmenté, indiquant une richesse plus grande en albuminoïdes (albumines et sérum-globulines), mais il n'a aucune relation avec l'intensité dans la Réaction des globules formolés.

Dans les sérums fortement positifs, la cholestérine est très diminuée, mais il y a des sérums lépreux avec la cholestérine augmentée.

*La Réaction des globules formolés ne s'est pas présentée à nous positive en aucun cas hors de la Lèpre.*