

DISCUSSION SUR LES RESULTATS OBTENUS DANS LA
REACTION DE MITSUDA A L'AIDE D'ANTIGENES DILUES

HERVE FLOCH, *Directeur*
Institut Pasteur de la Guyane
Cayenne, Guyane Française

Dans son rapport, adopté par le VIème Congrès International de Léprologie de Madrid (3-10 Octobre 1953), la Commission d'Immunologie recommande, en raison de la pénurie croissante du matériel de préparation de la lépromine, l'intensification de l'étude de nouvelles méthodes permettant plus d'économie dans l'emploi de ce matériel.

Les divers essais que nous avons pratiqués avec des lépromines plus ou moins diluées nous ont montré que, comme l'avaient écrit Pardo Castelló et Tiant (4), jusqu'à la dilution de 1/3000 on avait encore des résultats positifs quoique de plus en plus faibles à mesure que cette dilution augmentait:

"No easy standardization of lepromin is possible, being as it is such a complex suspension of bacilli and tissue material, but this does not interfere with the accuracy of results, as wide variations in the concentration of the antigen do not give correspondingly different reactions. A non-reacting patient to the usual lepromin will not react to an antigen two or three times stronger. A reacting patient will do so to dilutions as high as 1:3000 of lepromin, although with less intensity."

* * *

Depuis plusieurs années nous avons fait des recherches à ce sujet et depuis longtemps déjà nous nous sommes tenus à la dilution de 1/750 qui permet évidemment une économie sérieuse d'antigène puisqu'avec la même quantité originelle de celui-ci nous pratiquons 25 fois plus de réactions que lorsqu'on utilise l'antigène normal de Mitsuda-Hayashi dont la dilution finale est, on le sait, de 1/30.

Voici ce que nous écrivions à ce sujet (1):

"Comme antigène nous avons utilisé la lépromine préparée suivant la méthode classique de Hayashi, mais diluée au 1/750e au lieu du 1/30e. Ceci nous permet d'économiser notre antigène, divers essais que nous avons effectués auparavant nous ayant montré que la dilution à 1/750 n'apportait guère plus d'atténuation aux réponses positives que des dilutions bien moindres, au 1/100e par exemple, mais aussi d'obtenir un antigène lépreux et antigène tuberculeux, donnant des résultats aussi analogues que possible comme intensité. Ceux fournis par la lépromine au 1/750ème peuvent être rapportés facilement à ceux que donne la lépromine au 1/30ème, si l'on veut considérer que la réponse de celle-ci serait d'un degré (d'une croix) seulement supérieure."

Nous avons en effet, d'abord constaté que la diminution de positivité à partir de l'antigène normal n'était pas parallèle à la croissance de la dilution de celui-ci. Cette décroissance de la positivité procède par paliers: elle est par exemple indiscutablement faible de 1/30 à 1/150, puis augmente; ensuite on constate une autre diminution sérieuse entre les dilutions de 1/750 et 1/1000 et une autre diminution marquée encore au delà de 1/1500. Dès lors évidemment, certaines dilutions sont bien plus avantageuses à utiliser en pratique que d'autres.

* * *

Nous avons essayé de mettre en évidence sur un graphique cette diminution en paliers qui nous avait auparavant paru nette en dehors de toute interprétation graphique; celle-ci ne vient que secondairement et nous ne l'avons en somme réalisée que pour mieux matérialiser dans une note nos constatations. Il est bien évident que nos chiffres n'ont qu'une valeur toute relative; le mode de notation est arbitraire, seule l'allure du graphique compte. Elle montre effectivement, avec suffisamment de netteté, selon nous, la diminution en paliers de la positivité avec l'utilisation d'antigène de plus en plus dilués, et l'intérêt des dilutions à 1/150 et 1/750.

Nous avons donc pratiqué a plusieurs reprises vingt intradermo-réactions chez des malades Mitsuda-positifs à l'aide de dilutions différentes avec chaque fois, chez chaque patient, comme "témoin," l'intradermo-réaction à l'antigène de Mitsuda normal au 1/30. Pour notre interprétation graphique, nous avons dû éliminer les cas dont l'extrême positivité se manifestait par une ulcération. En effet notre système de notation est basée sur une différence de diamètre de l'infiltration au 21ème jour, ce qui n'est déjà pas très précis mais ne pouvait plus servir lorsqu'une ulcération se manifestait.

Dans notre première série de vingt malades Mitsuda positifs nous avons pratiqué deux intradermo-réactions avec le même antigène de Mitsuda à 1/30; nous avons mesuré les largeurs des papules au millimètre près (autant qu'il est possible car la papule n'est pas toujours exactement arrondie; dans ce cas nous prenons le diamètre moyen) et avons totalisé les chiffres obtenus. Nous n'avons pas obtenu les mêmes chiffres chez les mêmes malades à l'aide du même antigène, les deux réactions étant pratiquées et lues en même temps; ceci n'a pour nous évidemment rien d'étonnant: biologie n'est pas mathématiques. Nous avons en effet dans notre première série de malades des chiffres différents de 3 millimètres au total. En réalité cette différence nous paraît même faible, et nous aurion pu la trouver plus grande car des chiffres individuels nous ont donné quelquefois des différences de cet ordre, mais naturellement sur le nombre d'enfants testés les différences tantôt en plus, tantôt en moins, se sont contrebalancées assez exactement. Ceci donne en tous cas le degré

de "sensibilité" du mode de notation et de la représentation graphique utilisée; une différence de quelques millimètres au total est sans importance.

Dans une seconde série de vingt malades nous avons pratiqué les intradermo-réactions à l'aide des antigènes dilués à 1/30 et à 1/50; nous avons trouvé cette fois 5mm de différence au total ce qui est pratiquement sans signification.

Une troisième série de vingt patients a été testée à l'aide de lépromines à 1/30 et à 1/150: dix millimètres de différence ce qui est déjà notable mais encore peu important pratiquement, penson nous.

Dans une quatrième série toujours de vingt malades, lépromines à 1/30 et à 1/300, nous avons trouvé 29mm de différence, en moins pour la lépromine à 1/300, ce qui est déjà très net.

Une cinquième série de vingt malades encore, lépromine 1/30 et 1/500, nous a donné 35mm de différence.

Une sixième série du même nombre de patients, lépromine 1/30 et 1/750, nous a donné 37mm de différence. Dans cette série encore quelques réactions au 1/750 étaient plus fortes que celles produites par l'antigène au 1/30 (quatre sur vingt).

Enfin, une dernière série de malades, lépromines 1/30 et 1/1000, nous a montré une différence de 58mm. Dans cette série il faut noter qu'aucune fois la réaction pratiquée avec l'antigène dilué n'était plus forte que celle obtenue par l'antigène normal au 1/30.

* * *

Dans une note accompagnée de très nombreuses photographies qu'ils n'ont pu présenter au VIème Congrès de Léprologie (du fait qu'un seul travail, put finalement être présenté par chaque Congressiste présent) H. A. Neto et O. Diniz, partant de notre travail à ce sujet (2) confirment nos conclusions. Nous recommandons cependant plus spécialement, nous l'avons vu, la dilution à 1/750 plutôt que celle à 1/1000. Voici le résumé du travail de ces auteurs brésiliens (3):

"Os autores fizeram a aplicação em cerca de 250 crianças internadas no Preventorio São Tarcisio e Aprendizado Tecnico Profissional, em idades que variavam de 2 à 16 anos de antigéno de Mitsuda nas diluições de 1 para 750 e de 1 para 1.000, além da diluição, para testemunha, de 1 para 30. Os resultados que obtiveram com os antígenos diluidos acompanharam bem de perto os conseguidos com a solução normal, de acôrdo com o que se verifica dos quadros estatísticos que constam do texto do trabalho."

* * *

Nous concluons de notre travail, que l'on peut diluer l'antigène de Mitsuda normal à 1/5 (dilution finale 1/150) sans que pratiquement l'intensité des réponses positives de la réaction s'en ressente. Il est pour nous

certain que l'antigène "normal" est "trop concentré" et que l'on peut le remplacer par l'antigène au 1/150ème.

Une dilution du même antigène normal à 1/25 qui conduit à la dilution finale de 1/750 donne des résultats forts intéressants: en augmentant la notation de la positivité d'une croix on se ramène indiscutablement à la positivité qui est obtenue à l'aide de l'antigène normal à 1/30.

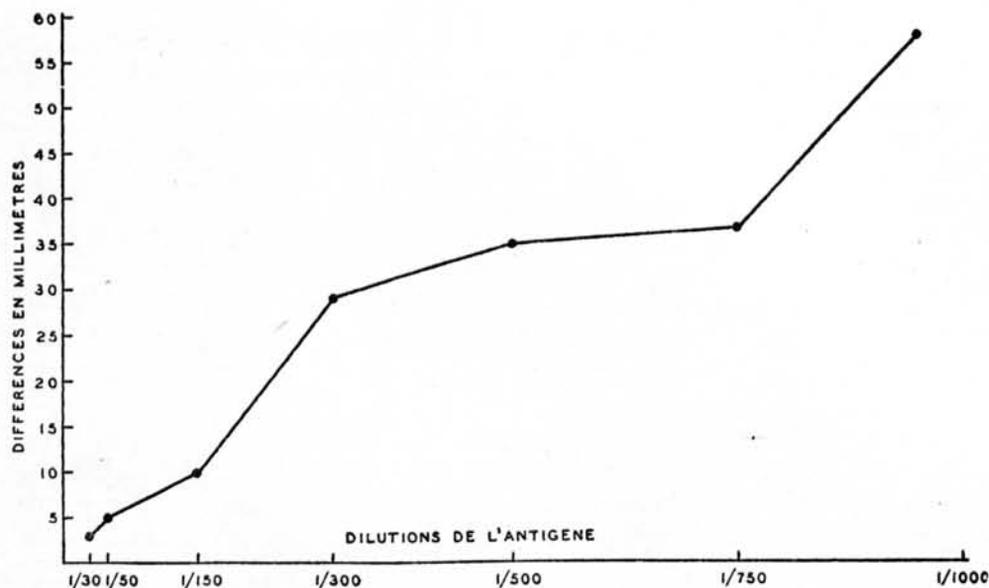


FIG. 1. Réaction de Mitsuda a l'aide d'antigènes dilués.^x

ABSTRACT

Because of increasing difficulty of getting material from which to make lepromin, it has been recommended that studies be made of methods of economizing on the material. In 1951 the author used a dilution of 1:750, partly for economy and partly to obtain a suspension comparable in concentration with a suspension of tubercle bacilli that was being used. The reactions were little weaker than a 1:100 dilution, for example.

Decrease of the degree of reaction does not parallel the degree of dilution, but occurs stepwise (*en paliers*). This relationship is shown in a graph constructed more or less arbitrarily, the values indicated only relative, but believed to show effectively the observed effects.

Comparing duplicate tests made with "normal" (1:30) dilution in the same lepromin-positive individuals and totalling the measurements of each test in the group of 20 patients, there was a total difference of 3 mm., an order of difference of no significance. There was only a slightly greater difference, 5 mm., when the 1:30 antigen and a 1:50 dilution were compared in a second series of 20 cases. There was then a sharp increase of difference up to 1:300, where it leveled off: 29 mm. with

^x It appears from the text that the figures of "differences in millimeters" refer to totals in the several groups of 20 patients tested, the differences indicated being between the indicated dilutions and the normal one in the same individuals.—*Editor*.

1:300, 35 mm. with 1:500 and 37 mm. with 1:750. After that there was another increase, so that with a 1:1000 dilution the difference was 58 mm.

It is concluded that the normal Mitsuda antigen can be diluted to 1:150 without affecting materially the reactions, and a dilution of 1:750 can be used with resulting reactions 1-plus (1+) less in degree than with the normal antigen. The latter is certainly too concentrated, and can be replaced by the 1:150 dilution.

BIBLIOGRAPHIE

1. FLOCH, H. Sur la vaccination par le BCG en prophylaxie antilépreuse. Étude de la para-immunité et de la para-allergie entre lèpre et tuberculose. Publ. No. 249, Inst. Pasteur de Guyane, Décembre 1951.
2. FLOCH, H. Discussions sur les résultats obtenus en prophylaxie antilépreuse par la vaccination BCG. Xème Congresso Brasileira de Hygiene. Belo Horizonte, Octobre 1952.
3. NETO, H. A. e DINIZ, O. Resultados da aplicação dos antigenos de Mitsuda diluidos. VIème Congresso International de Leprologia. Adición al Libro de Resúmenes. Madrid, Octubre 1953. *Internat. J. Leprosy* **22** (1954) 144-146.
4. PARDO-CASTELLÓ, V. e TIAN, F. R. Leprosy: The correlation of its clinical, pathologic, immunologic and bacteriologic aspects. *J. American Med. Assoc.* **121** (1943) 1264-1268; *Internat. J. Leprosy* **15** (1947) 202-213.