

Études Supplémentaires sur la Réaction de Fixation du Complément Modifiée (M. C. F.)

par

H. Mirdamadi et G. Nazari

Prof. de la sérologie

La réaction de Kolmer, pratiquée dans la plupart des laboratoires de l'Europe et de l'Amérique, est l'une des méthodes de fixation du complément dans la syphilis.

Si par comparaison avec les réactions des floculation, celle de Kolmer a l'inconvénient d'être moins sensible, elle a, en revanche, l'avantage de l'être encore moins en ce qui concerne ses résultats non spécifiques.

On sait que malgré l'existence de belles réactions de floculation, comme celles de Mazzini, de Kahn, de V. D. R. L. et de Kline, les réactions de fixation du complément gardent encore leur valeur et, c'est pour cette raison que dans quelques pays, en Allemagne par ex., la sérologie de la syphilis consiste, légalement, à une réaction de floculation toujours accompagnée d'une réaction de fixation du complément.

Il est vrai que la plupart des laboratoires en U.S.A préfèrent les réactions de floculation, mais cela s'explique, uniquement, par la simplicité et la facilité d'application de la procédé.

De plus, la réaction de fixation du complément sert à diagnostiquer non seulement la syphilis mais aussi les rickettsioses, les viroses et d'autres maladies infectieuses.

De nombreux sérologistes ont noté que les résultats positifs non spécifiques sont plus fréquents dans les réactions de floculation que dans la réaction de fixation du complément. Il est donc indispensable et la Comité d'Hygiène de la Société des Nations l'a formellement

recommandé - de pratiquer, pour le diagnostic de la syphilis, une réaction de floculation, accompagnée toujours d'une réaction d'hémolyse.

La réaction de Kolmer est caractérisée par:

1) L'emploi de 2 grosses unités de complément,

« « unités d'hémolysine.

2) La fixation prolongée du complément à basse température

3) un volume total de 3 cc.

4) L'emploi de 5 doses croissantes de sérum dans les réactions quantitatives.

5) L'usage de l'eau salée à 0,85‰ tamponnée.

En comparant la réaction de Kolmer à des autres méthodes de réaction de fixation du complément, on conçoit qu'elle a une supériorité nette, mais il faut avouer qu'elle a aussi des inconvénients qui en diminuent la sensibilité pour les raisons suivantes:

1) Le complément est affaibli à cause du volume de 3 cc.

2) L'incubation prolongée (18 heures) à la température de 6°-8° d'un mélange nutritif à pH 7 donne lieu à des pullulations des bactéries, des levures et des champignons, ce qui provoque la destruction partielle du complément par les enzymes bactériennes.

D'après Eagle, une fixation en une demi-heure à 37° donne le même résultat qu'en 4 heures à 0° mais une incubation en 18 heures à 6°-8° affaiblit sensiblement le complément.

3) Les résultats de la réaction de Kolmer sont tardifs et ne peuvent être délivrés simultanément avec ceux de la réaction de floculation. Ce sont des considérations qui nous ont amené, en 1953, à mettre au point une nouvelle méthode de réaction de fixation du complément pour la syphilis. Cette méthode est basée sur les 3 principes sérologiques suivants:

1) Étant donné que le volume total de 3 cc. utilisé par Kolmer a une influence affaiblissante sur le complément, un volume de 0,5 cc. a été choisi pour cette réaction.

2) On sait que le complément a une faible affinité pour l'antigène seul, mais son affinité atteint le maximum si l'antigène a été préalablement sensibilisé par la réagine; dans cette réaction, le complément est ajouté 10 minutes après avoir agité le mélange du sérum-antigène à

98 ÉTUDES SUPPLÉMENTAIRES SUR LA RÉACTION DE FIXATION
DU COMPLÉMENT MODIFIÉE

l'aide d'un rotateur.

3) Il est certain que la diminution du temps d'incubation à l'étuve diminue la sensibilité de la réaction, mais, en revanche, la rotation du mélange à la température de 35° l'augmente de telle façon qu'après ce délai on a une sensibilisation régulière et complète de l'antigène.

Il est à souligner qu'avant nous, quelques auteurs, comme Navarro-Martin Hombria, Zsü et dernièrement Portella, ont eu l'idée de profiter de l'action favorisante de l'agitation sur la sensibilisation de l'antigène et la fixation du complément, mais aucun des ces auteurs n'a profité convenablement de l'effet de l'agitation sur les phénomènes de sensibilisation de l'antigène et de la fixation du complément.

On sait que d'après Heidelberger, dans les phénomènes de fixation du complément et de sensibilisation de l'antigène, il s'agit d'un phénomène d'adsorption dans lequel la taille des particules interviendrait et d'après Landesteiner, la fixation du complément sera accélérée par l'agitation.

Donc, en profitant de ces 3 facteurs importants:

- 1) L'emploi de l'antigène à grosses particules,
- 2) L'effet de l'agitation convenable,
- 3) Le volume réduit des réactifs,

on pourra mettre au point une méthode de fixation du complément dans la syphilis, plus sensible et plus spécifique que la méthode de Kolmer.

Dans cette réaction, on soumet d'abord l'antigène à l'action de la réagine, tout en agitant le mélange contenu dans les tubes à fond plat ayant une bille de verre, par les mouvements rotatoires à la température de 35° .

De cette façon, l'antigène est sensibilisé régulièrement et rapidement dans un minimum de temps, on ajoute ensuite, à l'antigène ainsi sensibilisé, le complément et on agite de nouveau le mélange pendant 10 minutes, par des mouvements rotatoires lents et à la température de 35° .

La technique de la réaction: La technique de cette réaction a été donnée en détail dans la «Revue de la Faculté de Médecine de Téhéran». (VOL. II, No. 9 Juin 1949.)

Table No.1.- Résultats comparatifs entre la réaction M. C. F., Kahn Standard et la réaction de V. D. R. L.

V. D. R. L.	Kahn Standard	M. C. F.
positifs: 226	232	202
Négatifs: 270	261	298
Positifs biologiques: } 10	13	6

Table No. 2.- Comparaison des résultats quantitatifs, entre la réaction de Kolmer et la réaction de M. C. F.:

Dilu. des sérum	Réaction de Kolmer						Réaction de M. C. F.				
	0/2cc	0/1cc	0/5cc	0/25cc	0/005cc	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
1	4	»	4	4	-	4	4	4	4	2	-
2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	2
3	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4
4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
6	4	4	3	2	-	4	4	4	4	3	2
7	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	2
8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
9	4	4	3	2	-	4	4	4	4	4	4
10	4	4	3	2	-	4	4	4	4	4	3

Table No. 3.- Résultats comparatifs entre la réaction de M. C. F., Mazzini, V. D. R. L. et Kolmer:

Mazzini.	Kolmer,	V. D. R. L.	M. C. F.
Positifs: 361	301	241	281
Négatifs: 1	55	121	15

Table No. 4.- Résultats comparatifs entre la réaction quantitative de Kahn Standard et M. C. F. quantitative sur 10 sérums positifs à potentiel élevé de la réagine.:

Sérum	Unités de M. C. F.	Unités de Kahn Stand.
1	32	32
2	128	32
3	32	32
4	256	332
5	32	8
6	128	64
7	32	16
8	64	32
9	32	32
10	256	256

100 ETUDES SUPPLEMENTAIRES SUR LA RÉACTION DE FIXATION
DU COMPLÉMENT MODIFIÉE

En considérant que l'unité de Kahn est la dilution de sérum donnant une réaction de 4 plus positif multiplié par 4, on conçoit que le titre de la réagine en M.C.F. a été toujours plus élevé par rapport au titre donné par la réaction de Kahn standard.

Table No. 5.- Résultats comparatifs de la réaction de Kahn standard, V.D.R.L. et M. C. F. sur les sérums de 492 étudiants en Médecine.

	Kahn standard	V. D. R. L.	M. C. F.
Positive	15	12	8
Négative	477	480	484

Tenant compte que les étudiants en médecine sont considérés généralement comme des sujets normaux (sauf trois qui présentaient des antécédants syphilitiques), on conçoit que les réactions de Kahn standard et V. D. R. L. ont donné respectivement un pourcentage de 2,40/o et de 20/o de fausses positives, tandis que la réaction de M. C. F. a donné seulement 10/o fausse positive.

Il est à noter que même ce pourcentage de 10/o de fausse positive paraît être excessive pour une telle réaction, quoique ce chiffre peut être dû à une erreur de statistique, vue le petit nombre des cas qui sont encadrés dans cet expérience.

Table No.6.- Résultats comparatifs entre la réaction de M. C. F. et la réaction de V.D.R.L. quantitative sur 100 sérums positifs. (c.f. page No 101)

On voit bien sur ce tableau que dans 60/o des cas la réaction de V. D. R. L. a montré un taux plus élevé de la réagine; dans 130/o des cas le taux de la réagine était identique; dans 810/o des cas le taux de la réagine était plus élevé en M. C. F. par rapport à V. D. R. L.

Discussions: On sait que plusieurs facteurs, notamment le temps d'incubation et la température, la manière de faire le mélange antigène-sérum et antigène-sérum-complément, interviennent dans la réaction de fixation du complément.

Il va de soi que la diminution du temps d'incubation réduit la sensibilité de la réaction, mais en revanche, notre manière spéciale de rotation du mélange de sérum-antigène, d'abord, et d'antigène-sérum complément, ensuite, accélèrent la sensibilisation de l'antigène et la fixation du complément.