**Zeitschrift:** Archives des sciences [1948-1980]

**Herausgeber:** Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève

**Band:** 18 (1965)

**Heft:** 3

**Artikel:** Réactions cutanées de type immédiat provoquées dans la tuberculose humaine par le polysaccharide III : extrait des mycobactéries

**Autor:** Menkès, Michel

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-739219

**Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

**Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

**Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF:** 14.12.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch**

# RÉACTIONS CUTANÉES DE TYPE IMMÉDIAT PROVOQUÉES DANS LA TUBERCULOSE HUMAINE PAR LE POLYSACCHARIDE III EXTRAIT DES MYCOBACTÉRIES

PAR

**Michel MENKÈS** *

## INTRODUCTION

L'allergie à la tuberculine a été jusqu'ici la seule qui ait été mise en évidence dans la tuberculose humaine ou expérimentale.

KOCH, à la suite de l'inoculation de bacilles vivants à des animaux déjà infectés, obtint des réactions locales inflammatoires différentes de celles de la primo-inoculation. Il les provoqua aussi par l'introduction de bacilles tués par la chaleur. De même, l'injection intra-dermique de filtrats de bacilles tués déterminait un granulome inflammatoire localisé qui devenait fréquemment nécrotique dès le deuxième jour.

Depuis Von PIRQUET [1], l'allergie produite par l'introduction intra-dermique de la tuberculine a été la méthode couramment employée afin de détecter le contact d'un organisme vivant avec le bacille de Koch.

Le caractère fondamental de cette hypersensibilité tuberculinique, ainsi, d'ailleurs, que celui de toute hypersensibilité de type retardé, est de ne pas pouvoir être transféré par le sérum d'un sujet allergique à un sujet sain. Mais elle peut l'être au moyen de cellules du type histiolymphocytaire ainsi que l'ont démontré CHASE [19], METAXAS et METAXAS-BÜHLER [20].

On a longtemps admis que les bacilles tuberculeux morts peuvent sensibiliser à grosses doses le lapin et le cobaye à la tuberculine, mais que cette sensibilisation est de faible intensité, irrégulière dans son apparition et peu durable [21].

Mais COULAUD, en 1934 [2], démontra que l'on peut, par une injection unique de bacilles tuberculeux tués, enrobés dans de l'huile de paraffine, conférer à un animal une hypersensibilité intense et prolongée à la tuberculine, FREUND et coll., en 1937, confirment ces faits [3], ainsi que N. RIST [12] et A. SAENZ [14].

* Travail de la Clinique médicale de l'Hôpital Saint-Antoine, Centre d'Immuno-pathologie de l'Association Claude Bernard, Paris (Dir.: Prof. R. Kourilsky).

N. RIST [31-32] et N. CHOUCROUN [15] pensèrent que l'huile de paraffine n'agissait peut-être pas seulement comme un facteur spécial de diffusion, mais qu'elle devait extraire certains produits bacillaires, qui se propageraient dans les tissus pendant la diffusion de l'huile. Partant de cette idée, N. CHOUCROUN démontra, après extraction chimique de l'huile de paraffine mise en contact avec les bacilles, que l'allergie tuberculinique pouvait être induite par des constituants chimiques du bacille de Koch, sans participation des corps bacillaires. Il est nécessaire d'utiliser pour cela deux substances, toutes deux contenues dans l'extrait huileux: d'une part un complexe protéinique, d'autre part un lipopolysaccharide insoluble qu'elle désigna sous le nom de PmKo [4-5].

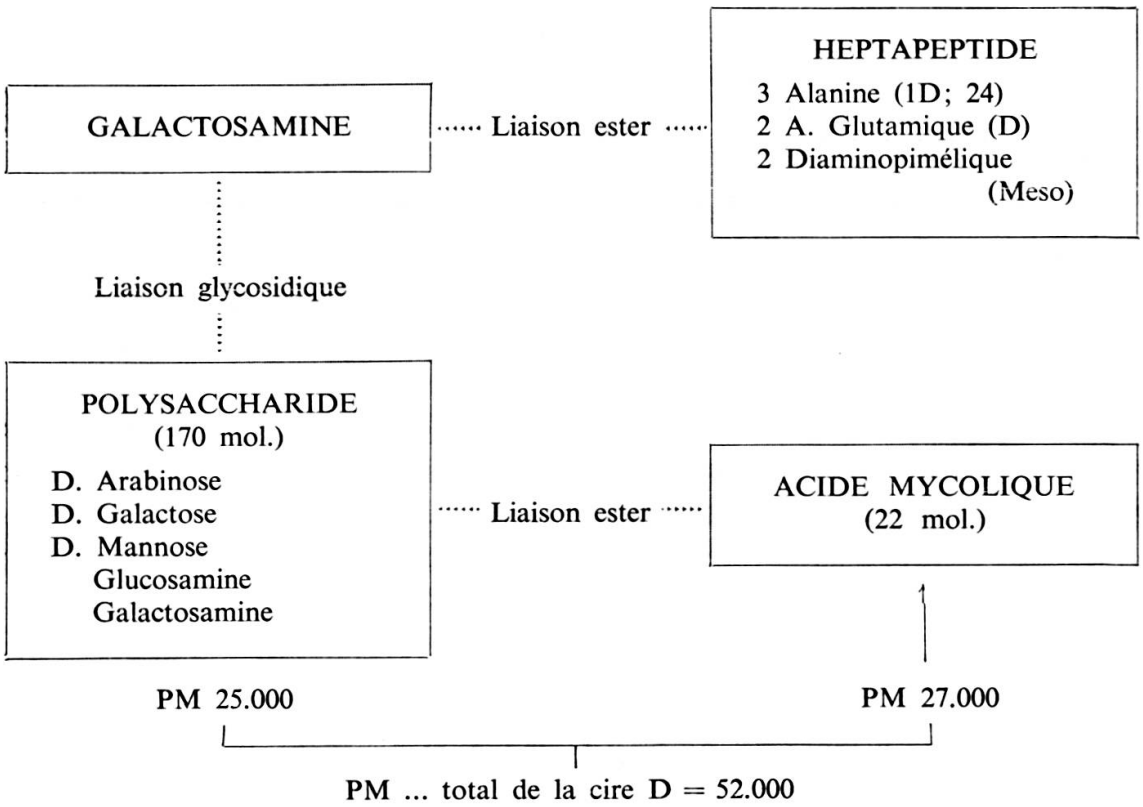
Ceci a été confirmé par S. RAFFEL en 1950 [6], à partir des cires d'Andersen.

ASSELINEAU, CHOUCROUN et LEDERER [8] ont montré que le lipopolysaccharide PmKo contient de l'acide mycolique, des acides gras et un polysaccharide ainsi qu'un heptapeptide, composé de trois acides aminés (analine, acide glutamique et acide $\alpha$, $\varepsilon$ diamino-pimélique), ASSELINEAU et LEDERER [22-25] ont établi que la structure chimique du lipopolysaccharide PmKo est identique à celle de la cire D d'Andersen. (Graphique I).

Ces corps sont donc des *peptido-glycolipides*, insolubles (P.G.L.), ils ne doivent pas être désignés sous le nom de lipopolysaccharides, qui est réservé aux substances

GRAPHIQUE I

STRUCTURE CHIMIQUE DE LA CIRE D (Dr LEDERER)



solubles, extraites des « Salmonelles » et des bactéries gram négatif. Seuls, en effet, les peptido-glycolipides insolubles ont la propriété générale de provoquer l'hypersensibilité retardée vis-à-vis des antigènes protidiques variés qui leur sont mélangés.

Cette propriété a été reconnue, avant même que les produits insolubles aient été extraits du « Mycobacterium Hominis ».

Les premiers, LEWIS et LOOMIS en 1934 [16] avaient signalé le phénomène qu'ils désignèrent sous le nom « d'irritabilité allergique » chez le cobaye tuberculeux. L'injection de globules rouges de mouton, par exemple, provoquait chez eux l'apparition d'un taux d'hémolysine beaucoup plus important que chez le cobaye sain.

Ce furent surtout DIENES et SCHONHEIT [53] qui montrèrent que si l'on injecte de l'ovalbumine dans la paroi d'une caverne tuberculeuse évolutive, au lieu d'obtenir une sensibilisation de type immédiat, à l'ovalbumine, il apparaît une sensibilisation du type retardé à cet antigène. LANDSTEINER et CHASE, en 1940 [17] obtinrent la sensibilisation du cobaye au chlorure de picryl par la voie péritonale en mélangeant le chlorure de picryl à des bacilles tuberculés tués, en suspension dans de l'huile de paraffine.

FREUND et coll. constatent que, sans bacille tuberculeux, le mélange paraffine + lanoline est un bon adjuvant pour obtenir, avec un antigène quelconque, l'hypersensibilité immédiate, mais que la présence de bacilles tuberculeux morts est nécessaire pour parvenir à la sensibilisation de type retardé vis-à-vis du même antigène [26-30].

S. RAFFEL [33] pensa que, dans le mélange: tuberculoprotéine + cire D (qui était nécessaire pour obtenir l'hypersensibilité tuberculinique), la cire D agissait comme un support adjuvant de l'antigène et que, s'il en était ainsi, on devait pouvoir obtenir, par le même moyen, une sensibilisation de type retardé avec d'autres antigènes que la tuberculo-protéine.

Dans une première série d'expériences, RAFFEL [33] put, en effet, créer chez les cobayes un état d'hypersensibilité retardée au chlorure de picryl, en mélangeant cet antigène avec des cires D. Les cires utilisées furent les cires d'Andersen. Dans un deuxième travail [34], S. RAFFEL complète ces expériences en utilisant un autre antigène: l'ovalbumine. Il démontre ensuite [35] que si l'on utilise des bacilles tuberculeux délipidés, on n'obtient pas l'hypersensibilité retardée, mais seulement une hypersensibilité immédiate.

KABAT et coll. [37-38] en 1947, obtinrent la production d'une encéphalomyélite allergique, en injectant à des singes rhésus du tissu cérébral hétérologue ou homologue, mélangé à des adjuvants contenant des bacilles tuberculeux tués.

Byron H. WAKSMAN confirma et continua ces travaux [39-40]. Il obtint également par ce procédé d'autres manifestations iso-allergiques, telles que, par exemple, l'arthrite allergique [41].

D'autre part, en remplaçant l'adjuvant contenant des bacilles de Koch par le peptido-glycolipide insoluble extrait, il provoqua également l'apparition de l'encéphalomyélite allergique expérimentale. Il employa à cet effet les cires purifiées de

RAFFEL, le PmKo de N. CHOUCROUN, ainsi que les cires D de LEDERER; cependant ces substances, pour être actives, doivent être présentes en plus grande proportion que celles qui sont contenues dans la masse de bacilles morts nécessaire pour obtenir la même activité immunisante. WAKSMAN montra également [36] que l'hypersensibilité cutanée de type retardé aux extraits homologues de tissus nerveux peut être induite par le mélange de l'un de ces peptido-glycolipides avec l'extrait tissulaire.

La découverte paradoxale du concours nécessaire d'un constituant peptido-glycolipidique insoluble pour que l'allergie tuberculinique puisse se développer incita N. CHOUCROUN, R. KOURILSKY et P. GRESLAND [7] à rechercher quelle serait la réponse d'un organisme sensibilisé par le bacille tuberculeux à l'introduction intra-cutanée de ce constituant.

L'intradermo-réaction fut positive et la réaction inflammatoire locale qu'elle provoqua se déroula comme celles qui sont caractéristiques des hypersensibilités retardées. Une telle réponse allergique à un constituant bactérien non protéinique n'avait jamais été observée.

L'analyse de cette réaction d'hypersensibilité cutanée, qui présente toutes les apparences d'une réaction du type retardé, a démontré les faits suivants:

1. Le phénomène est spécifique. Aucun des 55 enfants indemnes de toute contamination par le bacille de Koch [9] n'a réagi positivement à l'introduction intradermique de PmKo.
2. Les sujets allergiques à la tuberculine le sont également au PmKo [9].
3. A des doses provoquant des réactions équivalentes chez des sujets allergiques (5 $\gamma$ de PmKo et 3 U. de Tuberculine I.P.48), la réaction intra-dermique au P.G.L. PmKo est généralement d'intensité plus forte que la réaction tuberculinique dans les tuberculoses anciennes d'évolution torpide ou prolongée. Il en est de même dans les tuberculoses ulcéro-caséeuses de plus d'un an [10]. Au contraire, dans les tuberculoses récentes ou aigües, la réaction tuberculinique est la plus forte [10]. L'évolution vers la stabilisation ou vers la guérison, s'accompagne d'une réaction cutanée de plus en plus forte vis-à-vis du P.G.L. PmKo [10].

Par le même procédé d'analyse comparative, il a été démontré, dans des cas d'allergie faible, tels qu'on peut les observer au cours de certaines tuberculoses chroniques, au cours des pleurésies séro-fibrineuses ou chez des sujets âgés ou débilités, que le P.G.L. PmKo permettait, mieux que la tuberculine, de révéler l'hypersensibilité retardée au bacille de Koch [11].

Dans un travail très récent et non encore publié, J. EJDEN et R. KOURILSKY [42] cherchèrent à savoir si la détection cutanée d'une hypersensibilité à un antigène déterminé est, ou non, modifiée par le mélange de cet antigène avec le P.G.L. extrait du bacille tuberculeux. Pour ce faire, les auteurs sensibilisèrent une série de cobayes avec de l'ovalbumine, de façon à obtenir uniquement une sensibilité de type immédiat.

Ensuite, ils introduisirent dans la peau des animaux, en injection intra-dermique, le mélange ovalbumine-PGL en faisant varier la concentration respective de ces deux substances et en comparant l'effet avec celui de l'ovalbumine seule.

Ils nous montrèrent que la cire D (en l'occurence le PmKo de N. CHOUCROUN) a un effet-retard sur la réaction cutanée.

Alors que celle-ci atteint son maximum d'intensité 3 et 6 heures après l'injection intradermique de 25 gammas d'ovalbumine, la réaction cutanée au mélange de 25 $\gamma$ d'ovalbumine et de 20 $\gamma$ de peptido-glycolipide PmKo, atteint son plein développement 24 heures seulement après l'injection.

* * *

Les données que nous venons de passer en revue sur la biologie des cires D peuvent se résumer ainsi:

1. Les cires D sont nécessaires pour obtenir la sensibilisation à la tuberculine, mais elles doivent être associées à la tuberculo-protéine.
2. Elles peuvent remplacer les corps bacillaires du « Mycobacterium Hominis ou bovis » dans leur action d'adjuvant.
3. Leur introduction intra-cutanée chez les animaux de laboratoire tuberculisés, ou chez l'homme infecté par le bacille tuberculeux, provoque une réaction inflammatoire spécifique, évoluant apparemment comme celles qui sont caractéristiques de l'hypersensibilité du type retardé.
4. Injectées dans le derme, avec un antigène protidique auquel l'organisme est sensibilisé, elles prolongent la réaction inflammatoire d'hypersensibilité immédiate déclenchée par l'introduction de l'antigène et la font évoluer sur le mode retardé.

Un problème immunologique difficile se trouve ainsi posé: Quelle est l'hypersensibilité spécifique détectée par l'injection du peptido-glycolipide? Jusqu'ici seules des protéines antigènes solubles, d'un poids moléculaire important, sont connues comme étant capables, après sensibilisation de l'organisme, de mettre en évidence une réaction inflammatoire d'hypersensibilité retardée. Or, la cire D du bacille tuberculeux est insoluble, son poids moléculaire est faible, environ 52 000, et elle ne contient précisément pas de protéines.

Pour R. KOURILSKY [18], trois hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ce phénomène: 1) le peptide contenu dans les cires D joue le rôle de détecteur; 2) la détection s'exerce vis-à-vis d'un système antigénique non protidique mais polysaccharidique; ce polysaccharide fixé au lipide étant vraisemblablement l'antigène: 3) la molécule peptido-glyco-lipidique insoluble se comporte comme un antigène et peut induire l'hypersensibilité retardée qu'elle révèle.

Le rôle du peptide a pu être éliminé par nos travaux [70]; en effet, les cires D extraites de mycobacterium bovis Marmorek et Dupré ne contiennent pas de peptides mais permettent tout de même de détecter une réaction d'hypersensibilité cutanée identique à celle provoquée par les cires D habituelles.

*Rôle des polysaccharides*

De nombreuses études ont été faites sur les glucides du bacille tuberculeux, depuis 35 ans déjà [43-44-45-46-47-48]. N. CHOUCROUN [49] décrit une réaction de précipitation entre un polysaccharide, séparé par hydrolyse du complexe lipopolysaccharidique PmKo, et le sérum de sujets tuberculeux. Cette précipitation peut être constatée de façon soit qualitative, soit quantitative, par la méthode de HEIDELBERGER [50] en faisant un dosage colorimétrique précis de l'azote, contenu dans le précipité. R. KOURILSKY et coll. [51-52-54-55] ont étudié par la méthode de HEIDELBERGER près de 800 sérums tuberculeux et non tuberculeux. Leurs conclusions sont les suivantes: 1) la réaction de précipitation est spécifique; 2) cette spécificité souffre toutefois une exception: il existe une réaction croisée avec la lèpre [56-57]; 3) la réaction est positive dans 56% des cas de tuberculose dite tertiaire en activité; 4) l'ancienneté de la tuberculose est le facteur principal qui conditionne l'apparition et le taux des anticorps circulants antipolysaccharidiques. Ils ne sont décelables que six mois à un an après le début de la maladie. Leur taux diminue lors des poussées évolutives. Il est nul ou insignifiant lors des primo-infections; 5) les anticorps peuvent persister de nombreuses années après la guérison de la maladie; 6) il n'y a aucun parallélisme entre le taux des anticorps circulants et le degré de l'allergie tuberculinique.

P. BURTIN [58-59] a étudié grâce aux méthodes immuno-chimiques d'OUTCHERLONY et à l'analyse immuno-électrophorétique les différents antigènes du bacille tuberculeux, et spécialement le polysaccharide extrait des cires D.

Il identifia par ce procédé deux polysaccharides extraits des filtrats de culture et des autolysats de « Mycobacterium Hominis ».

L'un est identique au polysaccharide I de SEIBERT [46]; l'autre provient de l'hydrolyse d'un peptido-glyco-lipide. Pour ce dernier, l'auteur propose le n° III, terminologie que nous adopterons, un troisième constituant, probablement polysaccharidique, étant peut-être le polysaccharide II de SEIBERT [62-63].

Dans la tuberculine brute, seuls existent les polysaccharides I et III (P. BURTIN).

SORKIN et BOYDEN [47] étudiant la réaction de MIDDLEBROOK-DUBOS, ont isolé des filtrats de culture de bacille tuberculeux une substance thermostable, l'hémosensitine $\alpha$, qu'ils considèrent comme étant pratiquement identique au polysaccharide I de SEIBERT. P. BURTIN [59] étudiant les polysaccharides extraits du PmKo de N. CHOUCROUN et ceux des Cires D de LEDERER et ASSELINEAU, conclut à leur similitude. Ces polysaccharides III peuvent avoir des réactions croisées avec les polysaccharides I de SEIBERT, selon les immuns-sérums utilisés.

L'activité biologique du polysaccharide III a été étudiée, par G. A. VOISIN et Fr. TOULLET [65] grâce à l'étude de la perméabilité vasculaire [66]. Par cette méthode, ces auteurs mettaient en évidence une réaction du type immédiat au polysaccharide III. Ils obtinrent même, dans certains cas, des réactions du type Arthus [67], ce qui concordait avec la présence d'anticorps circulants et précipitants décelables par le ring-test.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### I. PRODUITS UTILISÉS

Nous avons utilisé plusieurs peptido-glycolipides insolubles, de différentes provenances et de différentes souches: Cire D de $H_{37}Rv$ Sr (fraction B 70); cire D de souche bovine Marmorek (fraction A, soluble dans l'éther); cire D de la souche « Mycobactérie Bovis Dupré » (fraction S); partie hydrosoluble de la cire D totale, $H_{37}$ Rv Sr (non purifiée); fraction hydrosoluble de la cire D de « Mycobacterium Phleï ».

Ces produits nous ont été fournis par l'Institut de Chimie des Substances naturelles du C.N.R.S. (Gif-sur-Yvette) [1].

Concurremment, nous avons utilisé les produits suivants fournis par l'Institut de Biologie et de Physico-chimie-biologique: PmKo de la souche $H_{37}Rv$ Sr; fraction hydrosoluble du PmKo [2].

#### AUTRES PRODUITS

Hématies de mouton non tannées, fournies par l'Institut Pasteur de Paris; antigène de Middlebrook-Dubos préparé par l'Institut Pasteur; tuberculine IP 48, à 3 unités (lot 336); à 10 unités (lot 182); adjuvant incomplet (Difco).

### II. TECHNIQUE DES INTRADERMO-REACTIONS

Toutes les injections sont faites sous un volume uniforme de 0,1 ml, en intradermique, sur la face antérieure de l'avant-bras. Nous utilisons des seringues de 1 ml graduées au 1/100 de marque Becton-Dickinson et des aiguilles de 4/10 de la même marque.

### III. LECTURE ET NOTATION DES ÉPREUVES INTRA-DERMIQUES

Toutes les lectures ont été faites aux mêmes temps: 10 minutes — 4 heures — 24 heures et 48 heures après l'injection.

[1] Nous tenons à remercier très vivement de leur obligeance le Professeur Edgar Lederer, professeur à la Faculté des Sciences de Paris, Directeur de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S., et le Docteur Jollès.

[2] Nous sommes redevables de ces produits à l'amabilité de M^lle^ Nine Choucroun, Directeur de Recherches au C.N.R.S., à qui nous exprimons nos vifs remerciements.

On apprécie le diamètre de l'infiltration et le diamètre de l'érythème avec le pied à coulisse. *Chez l'homme*, les données sont exprimées de la manière suivante:

0: infiltration de moins de 3 mm, érythème de moins de 5 mm,
±: infiltration de 3 à 6 mm, érythème de 5 à 10 mm,
+: infiltration de 6 à 9 mm, érythème de 10 à 15 mm,
+ ±: infiltration de 9 à 12 mm, érythème de 15 à 20 mm,
++: infiltration de 12 à 15 mm, érythème de 20 à 25 mm,
+++: infiltration de 15 mm et plus, érythème de 25 mm et plus.

### IV. Technique de detection des anticorps circulants Antipolysaccharides III

La recherche des anticorps précipitants a été faite par ring-tests, dans des tubes en verre de 5 cm de long et de 0,5 cm de diamètre.

L'antigène, le polysaccharide III, a été utilisé à des concentrations de 1,5 ou 10 $\gamma$/0,1 ml.

Les anticorps hémagglutinants ont été mesurés par la technique de Middlebrook-Dubos.

## ÉTUDE DES RÉACTIONS INFLAMMATOIRES CUTANÉES PROVOQUÉES PAR LA FRACTION HYDROSOLUBLE DES PEPTIDO-GLYCOLIPIDES CHEZ LES SUJETS ALLERGIQUES

Nous avons utilisé, d'une part, les fractions hydrosolubles des cires D, et d'autre part la fraction hydrosoluble extraite du PmKo.

Nous devons rappeler ici que les travaux d'Asselineau et Lederer ont montré que le polysaccharide (poids moléculaire 5000) contient D arabinose, D galactose, D mannose, de la glucosamine et de la galactosamine et que dans la fraction hydrosoluble, il est lié à l'heptapeptide par l'hexosamine (se reporter au graphique I).

1. Nos premiers essais (Tableau I) ont été faits avec une fraction hydrosoluble, *non purifiée* des cires D de $H_{37}Rv$. Les fractions ont été comparées à celles du PmKo (5 gammas). La fraction hydrosoluble fut injectée à la dose de 10 gammas. Toutes les injections intradermiques ont été faites sous le volume de 0,1 ml.

Le type de la réaction est immédiat. Elle est nette 4 heures après l'intra-dermoréaction, dure 24 heures, est faiblement perceptible à 48 heures; elle a complètement disparu à 72 heures.

TABLEAU I

*Réactions intradermiques provoquées chez les tuberculeux allergiques, par la fraction hydrosoluble* (F.H.S.) *non purifiée des peptido-glycolipides de la souche* $H_{37}Rv$

| Nombre | Noms | F.S.H. (10 gammas) | | | | PmKo (5 gammas) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 4h | 24h | 48h | 72h | 4h | 24h | 48h | 72h |
| 1 | Tou . | ± | + | — | — | — | ± | ± | + |
| 2 | Cor . | ± | + | — | — | ± | ± | — | — |
| 3 | Lem . | — | — | — | — | ± | + | +± | +± |
| 4 | San . | — | — | — | — | — | + | +± | +± |
| 5 | Cib . | ± | — | — | — | — | + | + | + |
| 6 | Tib . | ± | + | — | — | ± | ± | +± | — |
| 7 | Bru . | ± | + | ± | — | ± | + | +± | +± |
| 8 | Cui . | + | +± | + | + | ± | + | +± | ++ |
| 9 | Ne . | ± | +± | + | — | + | +± | ++ | +± |
| 10 | Bil . | ++ | +± | ± | — | — | + | +± | +± |
| Totaux | ++ | 1 | | | | | | 1 | 1 |
| | +± | | 2 | | | | 1 | 6 | 5 |
| | + | 1 | 4 | 1 | 1 | 1 | 6 | 1 | 2 |
| | ± | 6 | 1 | 2 | | 5 | 3 | 1 | |
| | — | 2 | 3 | 7 | 9 | 4 | | 1 | 2 |

La comparaison avec celle qui est provoquée par le PmKo montre une évolution inverse: la réaction est très peu importante après 4 heures; nette à 24 heures, croît en intensité après 48 heures, et se maintient encore à la 72e heure.

Elle est positive chez tous les sujets, tandis que la réaction à la fraction hydrosoluble est négative dans deux cas. L'intensité de celle-ci a été faible. Les réactions assez marquées (+ ±) n'ont été constatées que chez deux malades.

Il était toutefois nécessaire d'éliminer la possibilité de réactions irritatives non spécifiques provoquées par les fractions hydrosolubles, même purifiées. La séparation des différents constituants des mycobactéries est en effet une opération délicate, qui peut laisser subsister des traces de produits irritants, en particulier des lipides.

L'expérience fut donc refaite avec un polysaccharide *purifié* provenant de la souche $H_{37}Rv$ (fraction DP 70). Un essai préalable destiné à apprécier l'importance des réactions non spécifiques éventuellement provoquées par cette préparation, même purifiée, a été faite chez 9 nourrissons dont les réactions intradermiques tuberculiniques à 50 unités de tuberculine IP 48 étaient négatives.

Le Tableau II montre que le produit contient effectivement des substances irritantes non spécifiques, dont l'action s'exerce assez faiblement 4 heures après

TABLEAU II

*Réactions irritatives non spécifiques par la fraction hydrosoluble* (15 gammas/0,1 ml) *des peptido-glycolipides chez des nourrissons non allergiques*

| Nombre | Noms | 4 heures après l'injection | Diamètre de l'érythème (en mm) | 24 heures après l'injection | Diamètre de l'érythème (en mm) | 48 heures après l'injecton |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Zit . . . . . | ± | 5 | ± | 3 | — |
| 2 | Pey . . . . | ± | 5 | + | 7 | — |
| 3 | Bev . . . . | ± | 5 | ± | 5 | — |
| 4 | Tri . . . . | ± | 5 | + | 5 | — |
| 5 | Gou . . . . | ± | 3 | ± | 8 | — |
| 6 | Per . . . . | — | 3 | — | — | — |
| 7 | Ber . . . . | + | 7 | + | 10 | — |
| 8 | Zen . . . . | + | 10 | +± | 10 | — |
| 9 | Bon . . . . | ± | 7 | ± | 3 | — |
| Totaux | +± | | | 1 | | 0 |
| | + | 2 | | 3 | | 0 |
| | ± | 6 | | 4 | | 0 |
| | — | 1 | | 1 | | 0 |

l'injection mais beaucoup plus nettement après 24 heures. Par contre, elles disparaissent toutes à 48 heures. La dose utilisée avait été plus forte que chez les adultes: quinze gammas pour 0,1 ml.

Seul l'érythème a été mesuré; l'infiltration était très faible. Le diamètre de la zone érythémateuse est de 6,6 mm après 4 heures; 5,6 mm après 24 heures. Les dimensions extrêmes sont de 10 mm.

En injectant à l'adulte une dose moindre (10 gammas au lieu de 15) et en ne tenant compte que des réactions importantes, dont le diamètre soit supérieur à 10 mm, on peut en principe éliminer les réactions non spécifiques.

L'expérience fut donc répétée chez 20 sujets tuberculeux et les résultats furent comparés avec les réactions inflammatoires déclenchées par la cire D totale[1] (Tableau III).

La fraction hydrosoluble provoque une réaction immédiate dans tous les cas, sauf un.

Toutes les réactions, sans aucune exception, sont maxima 4 heures après l'injection. 7 d'entre elles n'étaient plus perceptibles 24 heures après. Vives ou faibles, elles avaient disparu très vite. (Graphique II).

[1] Il eut fallu normalement utiliser la cire D totale extraite de $H_{37}Rv$, à partir de laquelle la fraction hydrosoluble avait été préparée. Des raisons matérielles nous ont conduits à utiliser le PmKo, nos recherches précédentes nous ayant montré l'identité des réactions de ce composé avec la cire D $H_{37}Rv$.

TABLEAU III

*Réactions intradermiques provoquées chez les tuberculeux allergiques, par la fraction hydrosoluble purifiée* (F.H.S.P.) *Dp 70 de* $H_{37}Rv$

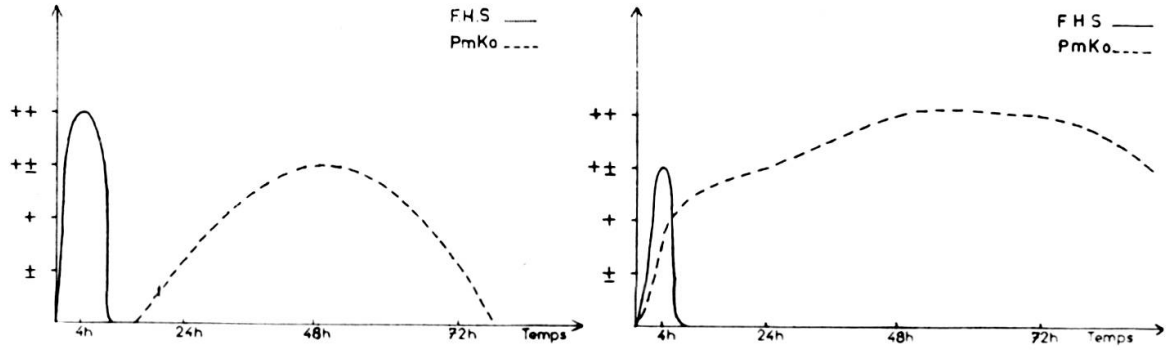
| Nombre | Noms | FHSP (10 gammas/0,1 ml) | | | | PmKo (5 gammas/0,1 ml) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 4h | 24h | 48h | 72h | 4h | 24h | 48h | 72h |
| 1 | Hou . | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 2 | Mal . | + | — | — | — | — | + | + | + |
| 3 | Gra . | ± | — | — | — | ± | ± | + | — |
| 4 | Réa . | + | — | — | — | — | + | ± | — |
| 5 | Wer . | ± | ± | — | — | — | +± | ++ | ++ |
| 6 | Bas . | + | — | — | — | ± | ± | — | — |
| 7 | Kos . | + | — | — | — | + | + | — | — |
| 8 | Med . | +± | — | — | — | + | +± | ++ | ++ |
| 9 | Jac . | + | ± | — | — | — | + | ++ | +± |
| 10 | Web . | ++ | ± | — | — | ± | + | ++ | ++ |
| 11 | Pot . | +± | ± | — | — | — | ++ | ++ | +± |
| 12 | Kro . | +± | ± | — | — | ± | +± | +± | + |
| 13 | Lem . | +± | + | ± | ± | — | +± | ++ | ++ |
| 14 | Fer . | ++ | + | — | — | — | +± | + | — |
| 15 | The . | ++ | ± | — | — | — | + | +± | +± |
| 16 | Sad . | +± | ± | — | — | + | +± | ++ | ++ |
| 17 | Ere . | ++ | + | ± | — | — | +± | ++ | + |
| 18 | Lec . | ++ | +± | ± | — | + | +± | ++ | ++ |
| 19 | Hom . | +± | + | ± | — | — | +± | ++ | +± |
| 20 | Cho . | ++ | — | — | — | — | + | +± | ± |
| Totaux | ++ | 6 | 0 | | | 0 | 1 | 10 | 6 |
| | +± | 6 | 1 | | | 0 | 9 | 3 | 4 |
| | + | 5 | 4 | | | 4 | 7 | 3 | 3 |
| | ± | 2 | 7 | 4 | 1 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| | — | 1 | 8 | 16 | 19 | 12 | 1 | 3 | 6 |

Douze réactions étaient encore notables après 24 heures. Toutes, sauf une, étaient en diminution importante, sur les réactions immédiates. Huit d'entre elles avaient disparu avant 48 heures (Graphique III).

Chez quatre sujets, les réactions dépassent 48 heures, l'une atteint 72 heures comme dans les réactions d'hypersensibilité du type rapide (Graphique IV).

L'intensité de la réaction immédiate était forte 12 fois sur 20. Le diamètre de l'érythème dépassait 10 mm, limite extrême des réactions irritantes provoquées par une dose supérieure de polysaccharides (15 gammas) chez le nourrisson non allergique. Il ne s'agit donc pas de réactions inflammatoires banales.

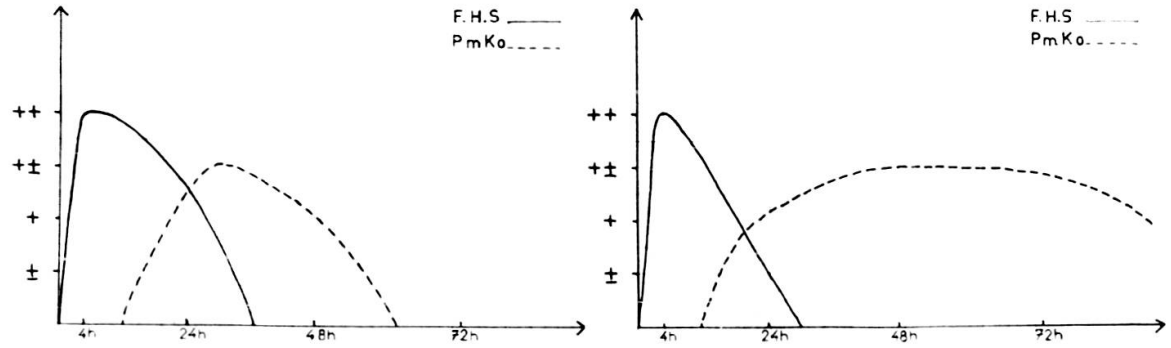
L'évolution des réactions à la fraction hydrosoluble est très différente de celles qui ont été induites par le P.G.L. PmKo. Huit réactions seulement ont débuté plus ou moins faiblement après 4 heures; mais après 24 heures, toutes sauf une étaient positives, dont 10 fortement et 13 après 48 heures.




GRAPHIQUE II

*Evolution des réactions intradermiques à la fraction hydrosoluble du PmKo (dix gammas) en fonction du temps*

A) Réactions immédiates transitoires




GRAPHIQUE III

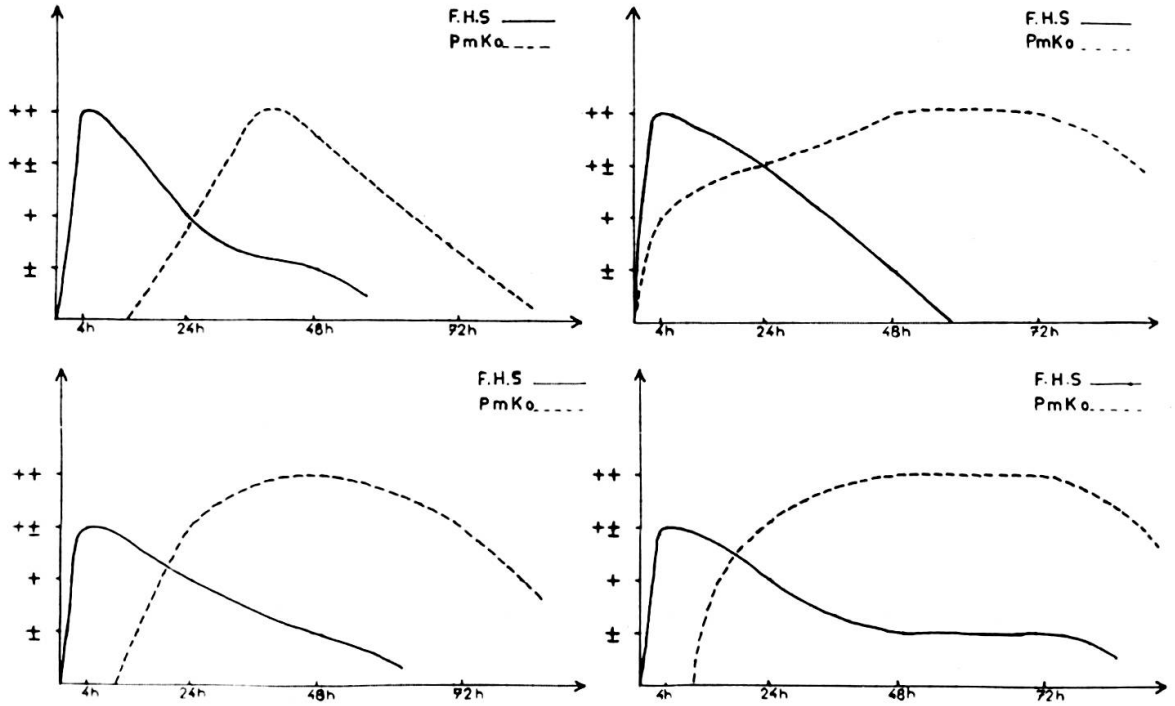
*Evolution des réactions intradermiques à la fraction hydrosoluble du PmKo (dix gammas) en fonction du temps*

B) Réactions prolongées à 24 heures

A 72 heures, dix réactions fortes étaient encore lisibles. Parmi les huit réactions précoces, deux seulement disparurent à 48 heures (cas Bas... et Kos...).

Les six autres réactions s'accentuèrent progressivement à 24 et à 48 heures. Une seule ne dépassa pas 72 heures [3] (cas Gra...) et une autre était nettement affaiblie [2] (cas Kros...).

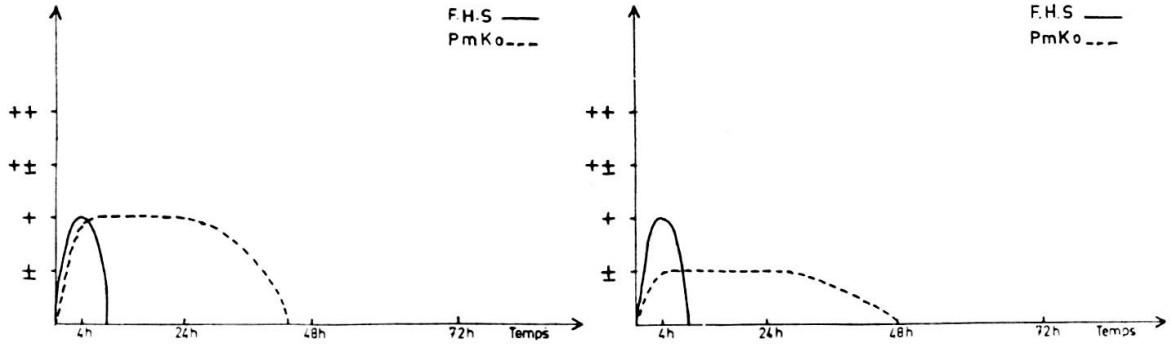
Toutes les autres réactions étaient encore fortement indurées et rouges à 72 heures (Graphique VII).




GRAPHIQUE IV

*Evolution des réactions intradermiques à la fraction hydrosoluble du PmKo (10 gammas) en fonction du temps*

C) Réactions prolongées au-delà de 48 heures



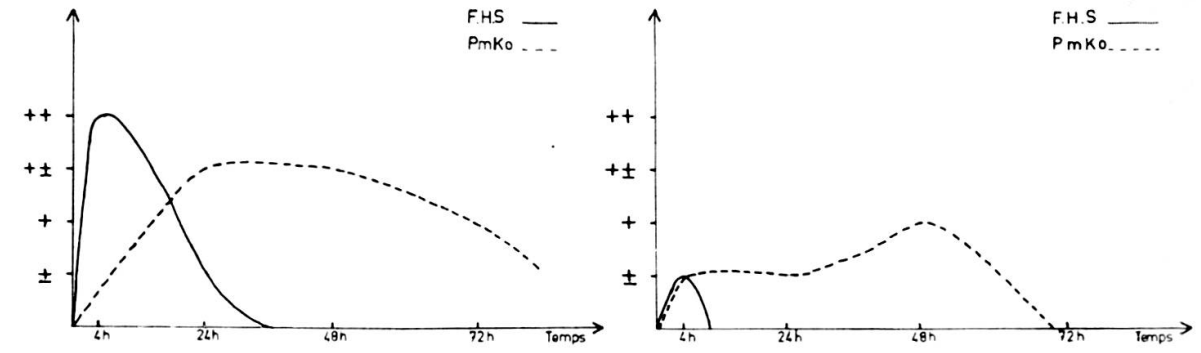

GRAPHIQUE V

*Evolution des réactions intradermiques au PmKo (cinq gammas) en fonction du temps*

A) Réactions faibles à début immédiat durant moins de 48 heures

Mises à part ces huit observations, le début de la réaction à la cire D est plus tardif que celui des réactions immédiates provoquées par la fraction hydrosoluble. Cette dissociation est bien mise en évidence dans les graphiques suivants (VIII et IX).

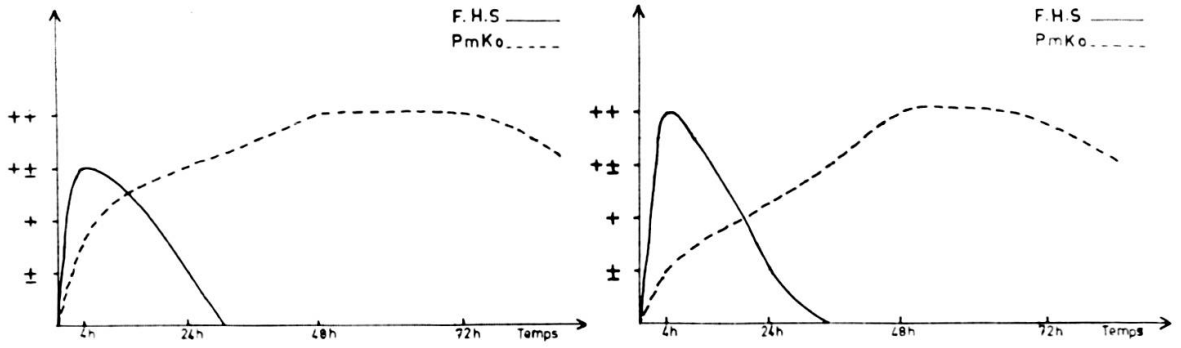
Si dans certains cas (Mab. Rea...), les réactions sont d'une intensité comparable (aux doses utilisées), il y a en fait dans la plupart des cas une différence importante (Graphique IX).




GRAPHIQUE VI

*Evolution des réactions intradermiques au PmKo (cinq gammas) en fonction du temps*

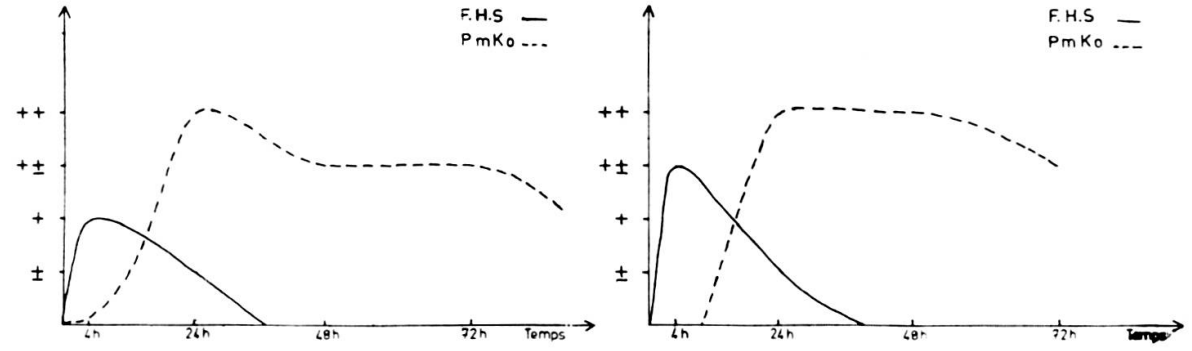
B) Réactions à début immédiat prolongées au-delà de 48 heures




GRAPHIQUE VII

*Evolution des réactions intradermiques au PmKo (cinq gammas) en fonction du temps*

C) Réaction à début immédiat et d'une durée prolongée au delà de 48 heures

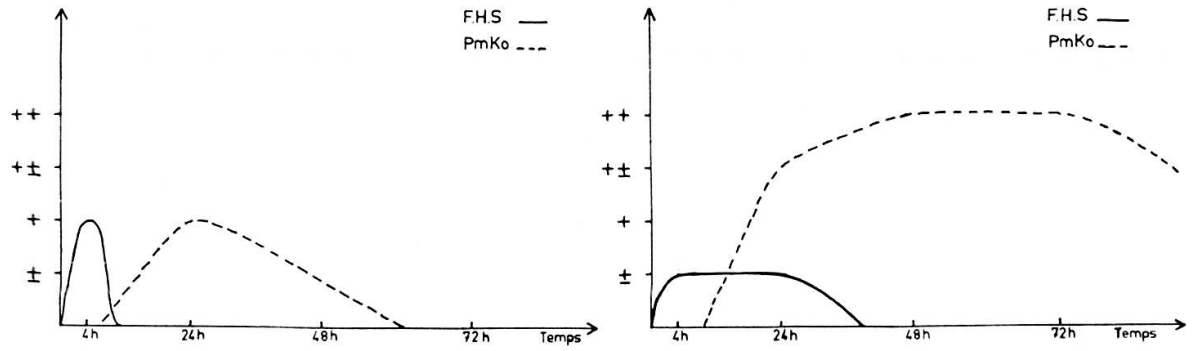



GRAPHIQUE VIII

*Evolution des réactions intradermiques au PmKo et à la fraction hydrosoluble*

A) Début

La fraction hydrosoluble des cires D $H_{37}Rv$ permet donc de provoquer une réaction cutanée du type immédiat chez les sujets allergiques. Quoique cette substance soit irritante à forte dose chez le sujet non allergique, l'analyse des réactions ne laisse pas de doute sur l'existence d'une hypersensibilité immédiate.




GRAPHIQUE IX

*Evolution différente des réactions intradermiques au PmKo et à la fraction hydrosoluble*

B) Intensité

Cependant ces fractions hydrosolubles contiennent, outre le polysaccharide III, le peptide [68-69]. Nos essais antérieurs nous avaient certes démontré que ce dernier ne jouait apparemment pas de rôle dans la détermination des réactions inflammatoires provoquées par les cires D chez les sujets allergiques. Il nous a paru néanmoins nécessaire de contrôler nos résultats en utilisant la fraction hydrosoluble d'une souche de Mycobacterium dépourvue de peptide, en l'espèce, Mycobacterium Phlei.

La dose injectée a été identique: 10 gammas sous 0,1 ml. Les réactions ont été observées après dix minutes, 4 heures et 24 heures. Les résultats sont colligés dans le tableau IV.

Les résultats sont partout identiques, avec une légère prédominance à 4 heures de la cire D $H_{37}Rv$. Le peptide est donc sans influence.

L'examen du tableau V appelle les remarques suivantes:

a) *Réactions provoquées par les polysaccharides.*

1. Il est significatif que chez tous les sujets ayant des réactions d'hypersensibilité immédiates au polysaccharide III [1-3-5-7-12-21] on puisse déceler, par ring test, des anticorps antipolysaccharidiques précipitants.

2. Aucun de ceux dont les réactions intradermiques aux polysaccharides ont été négatives, ne recelait dans le sérum la présence d'anticorps précipitants: il n'y eut aucune discordance.

TABLEAU IV

*Réactions intradermiques provoquées chez des sujets allergiques par les fractions hydrosolubles (FHS) purifiées de différentes cires D contenant ou non le peptide*

| Nomrbe | Nom | FHS Mycobacterium Phlei (10 gammas) | | | FHS $H_{37}Rv$ (10 gammas) | | | FHS du PmKo (10 gammas) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 10′ | 4h | 24h | 10′ | 4h | 24h | 10′ | 4h | 24h |
| 1 | Rog . . . | ++ | ± | — | ++ | ± | — | ++ | ± | — |
| 2 | Rec . . . | ++ | — | — | ++ | +± | + | ++ | ± | — |
| 3 | Del . . . | ++ | — | — | ++ | ± | — | ++ | ± | — |
| 4 | Cui . . . | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 5 | Mis . . . | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6 | Thi . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 7 | Bou . . . | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 8 | Rem . . . | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 9 | Gil . . . . | + | — | — | + | — | — | + | — | — |
| 10 | Sei . . . . | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Totaux | ++ | 3 | | | 3 | | | 3 | | |
| | +± | | | | | 1 | | | | |
| | + | 1 | | | 1 | | 1 | 1 | | |
| | ± | | 1 | | | 2 | | | 3 | |
| | — | 6 | 9 | 10 | 6 | 7 | 9 | 6 | 7 | 10 |

3. L'importance de la réaction cutanée ne paraît pas être proportionnelle à la précipitation. Il serait nécessaire d'employer des techniques plus précises pour fixer le rapport entre la quantité d'anticorps circulants et les dimensions de l'érythème et de l'infiltration.

4. Les réactions sont immédiates et s'effacent très vite. Parmi celles du polysaccharide extrait du PmKo, une seule a persisté 24 heures, elle avait débuté à 4 heures [20]; 3 sur 7 étaient très atténuées 4 heures après l'injection [3-7-21] et 3 autres avaient disparu [1-8-12].

5. La fraction hydrosoluble des diverses cires D se comportent de la même façon, soit comme antigène précipitant, soit comme antigène révélant l'hypersensibilité immédiate, avec des différences occasionnelles dans le second cas.

b. *Réactions provoquées par les cires D.*

1. Dans un petit nombre de cas, la cire D provoque des réactions *immédiates* dix minutes après l'injection (3 sur 25) [5-7-12].

TABLEAU V

*Anticorps sériques et réactions d'hypersensibilité au polysaccharide III et au peptido-glycolipide*

| Nombre | Nom | Polysaccharide III du PmKo (10 gammas) | | | | Polysaccharide de la cire D ($H_{37}Rv$) (10 gammas) | | | | Cire D (5 gammas) | | | | Ring test |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 10′ | 4h | 24h | 48h | 10′ | 4h | 24h | 48h | 10′ | 4h | 24h | 48h | |
| 1 | Dom . | ++ | — | — | — | ++ | + | + | + | — | + | ++ | + | + |
| 2 | Des . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | — |
| 3 | Roq . | ++ | ± | — | — | ++ | ± | — | — | — | — | + | ++ | + |
| 4 | Bed . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ++ | + | — |
| 5 | Ric . | ++ | + | — | — | ++ | ++ | + | — | + | ++ | + | ++ | + |
| 6 | Vol . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | — |
| 7 | Del . | ++ | ± | — | — | ++ | ± | — | — | + | — | ± | + | + |
| 8 | Cho . | + | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ++ | +++ | + |
| 9 | Rem . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | + | + | — |
| 10 | Roy . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | + | — |
| 11 | Lef . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | ± | — | — |
| 12 | Gil . | + | — | — | — | + | — | — | — | — | — | +± | ++ | + |
| 13 | Sei . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | +± | — |
| 14 | Mon . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | + | — |
| 15 | Per . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | + | — |
| 16 | Mun . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 17 | Cui . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | ++ | — |
| 18 | Thi . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 19 | Bou . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | +± | — |
| 20 | Kil . | — | + | + | — | — | + | ++ | — | — | — | ++ | ++ | + |
| 21 | Mah . | + | ± | — | — | + | — | — | — | — | — | + | ++ | + |
| 22 | Che . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | ± | + | — |
| 23 | Lav . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 24 | Mer . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | + | + | — |
| 25 | Ocy . | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Totaux | +++ | — | — | — | | | | | | | | | 1 | |
| | ++ | 4 | — | — | | 4 | 1 | 1 | | | 1 | 4 | 6 | |
| | +± | — | — | — | | | | | | | | 1 | 2 | |
| | + | 3 | 2 | 1 | | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 9 | 10 | |
| | ± | | 3 | — | | | 2 | | | | 2 | 6 | 1 | |
| | — | 18 | 20 | 24 | 25 | 19 | 20 | 22 | 24 | 23 | 21 | 5 | 5 | |

Ces malades avaient tous réagi d'une manière aussi forte [12] ou plus forte [5-7] à l'introduction de polysaccharide, et leur sérum contenait des anticorps antipolysaccharidiques.

2. Dans 3 cas seulement (1,9,11) la cire D a provoqué une réaction inflammatoire faible *à 4 heures ;* sans réaction immédiate 2 fois sur 3. Cette réaction s'est prolongée à 24 heures et 48 heures.

Dans le 3e cas (11), elle était très faible et a disparu à 48 heures — Un seul de ces malades (1) avait présenté une hypersensibilité immédiate au polysaccharide, disparue à 4 heures.

3. Dans la règle, la réaction à la cire D n'est nette qu'à 24 heures. A 48 heures, elle est étale (cas 2, 9, 20, 24) mais généralement plus forte (14 cas sur 25); 2 fois seulement (1, 11) elle a légèrement diminuée — C'est donc une réaction de caractère *retardé ;* très fréquente (21 fois positive sur 25).

Elle est manifeste, que le sujet ait présenté (7 cas) ou non (14 cas) une hypersensibilité immédiate au polysaccharide.

4. Lorsqu'elle est négative (4 cas: 16, 18, 23, 25) aucun des malades ne présentent d'hypersensibilité immédiate au polysaccharide ou à la cire D, ni d'anticorps précipitants.

Les deux réactions sont donc distinctes. Cependant les cires D sont susceptibles, de faire apparaître dans certains cas des réactions immédiates (ou précoces 10 minutes et 4 heures après l'injection). Les problèmes soulevés par ces constatations seront discutés plus loin.

c) *Anticorps hémagglutinants et réactions intradermiques.*

Nous avons effectué des réactions de Middlebrook-Dubos sur 10 des sérums précédents (Tableau VI).

TABLEAU VI

*Anticorps antipolysaccharidiques précipitants et hémagglutinants chez les donneurs*

| Nombre | Nom | Taux des A.C. hémagglutinants | Réactions cutanées | | Tests de précipitation |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | au PS | a la cire D | |
| 1 | Kir . . . . . | — | +± | ++ | + |
| 2 | Del . . . . . | 1/512 | ++ | ++ | + |
| 3 | Dom . . . . | 1/16 | ++ | ++ | + |
| 4 | Thi . . . . . | — | — | — | — |
| 5 | Des . . . . . | — | — | — | — |
| 6 | Lah . . . . . | — | + | ++ | + |
| 7 | Rog . . . . . | 1/128 | ++ | +± | + |
| 8 | Gil . . . . . | 1/1024 | + | +± | + |
| 9 | Mun . . . . | 1/128 | — | — | — |
| 10 | Ric . . . . . | 1/256 | ++ | ++ | + |
| Totaux | ++ | | 4 | 5 | |
| | +± | | 1 | 2 | |
| | + | | 2 | | 7 |
| | — | | 3 | 3 | 3 |

L'absence de parallélisme entre les anticorps hémagglutinants et les réactions cutanées est évidente.

## DISCUSSION

Le polysaccharide contenu dans la fraction hydrosoluble des cires D joue un rôle important. Ce polysaccharide, étudié en 1948 par HAWORTH, KENT et STACEY [60], par ASSELINEAU et LEDERER [64-23-61] est présent surtout dans la membrane cellulaire en même temps que les amino-acides de la cire D. Il est différent des polysaccharides I et II extraits des milieux de culture destinés à la préparation des tuberculines [48].

La spécificité de ce P.S. III a été établie par P. BURTIN [58-59]; le P.S. III donne des réactions de précipitations avec les sérums d'animaux tuberculinisés ou avec les sérums de sujets tuberculeux [51-52]; d'autre part, chez les cobayes, il permet de détecter une réaction d'hypersensibilité vasculaire [66-67]. Ces faits corroborent la réaction d'hypersensibilité immédiate cutanée obtenue dans notre travail chez l'homme. Cependant, nous constatons que seul un certain pourcentage de tuberculeux ont réagi à l'introduction intra-dermique de cet antigène. L'explication nous semble provenir de ce que la production des anticorps circulants anti P.S. III, est lente et progressive. Les titrages faits par M^lle^ N. Choucroun par la méthode de Heidelberger montrent que les anticorps ne sont décelables que plusieurs mois après le début de la maladie, mais qu'ils augmentent progressivement au fur et à mesure de l'évolution [54-55]. N. Choucroun avait déjà montré [49] que ce P.S. n'est pas un haptène, il est antigénique. En effet, l'injection du P.G.L. PmKo dans la cavité péritonéale du cobaye ou dans les coussinets plantaires fait apparaître dans le sérum des taux élevés d'anticorps anti P.S. III.

Nos expériences ont confirmé l'antigénicité des polysaccharides liés aux cires D, en effet les injections intradermiques des fractions hydrosolubles provenant de diverses cires D déclenchent des réactions immédiates ou précoces fortes chez les sujets possédant des anticorps circulants, pratiquement nulles chez les non-allergiques au bacille de Koch. Le comportement antigénique du P.S. III est différent de celui des haptènes [62-93], contrairement aux P.S. pneumococciques qui ne sont pas antigéniques et qui ne provoquent pas de réactions cutanées [48].

## CONCLUSIONS

La fraction hydrosoluble des cires D qui contient le polysaccharide III ou le P.S. III seul, injecté dans le derme de sujets tuberculeux ou de cobayes rendus allergiques au bacille de Koch fait apparaître une réaction cutanée de type immédiat ou précoce. Cette réaction est spécifique et caractéristique d'une hypersensibilité de type immédiat.

Dans la tuberculose humaine ou expérimentale, on peut donc mettre en évidence non seulement l'hypersensibilité bien classique à la tuberculine, mais également une réaction cutanée de type immédiat grâce au P.S. III.

## BIBLIOGRAPHIE


1. PIRQUET, C. Von, Tuberkulin Diagnose durch cutane Impfung. *Berl. Klin. Wschr.*, 1907, *48*, 644.
2. COULAUD, E., Etat allergique durable obtenu chez les animaux de laboratoire par injection sous-cutanée de bacilles tuberculeux morts enrobés dans la paraffine solide. *Rev. Tuberc.*, (Paris), 1934, *2*, 830.
3. FREUND, J. J. et coll., Sensibilization and antibody formation of injection at tubercle bacilli and paraffin oil. *Proc. Soc. Exp. Biol.* (N.Y.), 1937, *37*, 509.
4. CHOUCROUN, N., Tubercle bacillus antigen. Biological properties two substance isolated from a paraffin oil extract of dead tubercle bacilli. *Am. Rev. Tuber.*, 1947, *56*, 203.
5. —— Rôle joué par le lipopolysaccharide du bacille tuberculeux dans l'hypersensibilité à la tuberculine et dans l'acido-résistance du bacille. *C.R. Acad. Sci.* (Paris), 1948, *226*, 1477.
6. RAFFEL, S., Chemical facteur involved in the induction of infectious allergy. *Experientia* (Basel), 1950, *6*, 410.
7. CHOUCROUN, N., GRESLAND, P., et KOURILSKY, R., Hypersensibilité de type retardé au lipopolysaccharide du bacille tuberculeux. Etude comparative des tests intra-dermiques à la tuberculine et à ce constituant non protéinique. *C.R. Acad. Sci.* (Paris), 1958, *247*, 1055.
8. ASSELINEAU, J., CHOUCROUN, N. et LEDERER, E., Sur la constitution chimique d'un lipopolysaccharide antigénique extrait du Mycobactérium tuberculosis var. himonis. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1950, *51*, 197.
9. CHOUCROUN, N., GRESLAND, P. et KOURILSKY, R., Hypersensibilité du type retardé au lipopolysaccharide du bacille tuberculeux. *Rev. Tuber.* (Paris), 1960, *24*, 592.
10. KOURILSKY, R., GRESLAND, P. et CHOUCROUN, N., Etude des variations d'intensité des hypersensibilités retardées au lipopolysaccharide PmKo et à la tuberculine en fonction de l'évolution anatomo-clinique de la tuberculose. *Rev. Tuber.* (Paris), 1960, *24*, 605.
11. CHOUCROUN, N., KOURILSKY, R., et GRESLAND, P., Etude comparatives des épreuves intradermiques à la tuberculine et au lipopolysaccharide PmKo, chez les sujets faiblement allergiques ou anergiques. *Rev. Tuber.* (Paris), 1960, *24*, 980.
12. RIST, N., L'allergie conférée par les bacilles tuberculeux morts enrobés dans la paraffine. *Ann. Inst. Pasteur*, 1938, *61*, 121.
13. SAENZ, A., Accroissement de l'état allergique et titrage de la sensibilité tuberculinique conféré au cobaye par l'inoculation de bacilles morts enrobés dans de l'huile de paraffine. *C.R. Soc. Biol.* (Paris), 1935, *120*, 7.
14. —— Caractère de l'allergie et de l'immunité conféré au cobaye par l'inoculation de bacilles morts enrobés dans de l'huile de vaseline. *Ann. Inst. Pasteur*, 1938, *60*, 58.
15. CHOUCROUN, N., Sur un antigène sensibilisant extrait du bacille tuberculeux. *C.R. Acad, Sci.* (Paris), 1939, *208*, 1757.
16. LEWIS, P. A. et LOOMIS, D., Allergic irritability, the fondation of anti-sheep hemolytic amboceptor in the normal and tuberculous guinea-pig. *J. Exp. Med.*, 1924, *40*, 503.
17. LANDSTEINER, K. et CHASE, M. W., Studies on the sensitization of animals with simple chemical compounds, VII Skin sensitatization by intraperitoneal injections. *J. Exp. Med.*, 1940, *71*, 238.
18. KOURILSKY, R., Hypersensibilité retardée au bacille de Koch et au lipopolysaccharide insoluble du bacille tuberculeux. *Acta. Phtisiol.* (Paris), 1962, *55*, 5.
19. CHASE, M. W., The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin protein. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* (N.Y.), 1945, *59*, 134.

20. METAXAS, M. N. et METAXAS-BUHLER, Studies on the cellular transfer of tuberculin sensitivity in the guinea-pig. *J. Immunol.*, 1955, *75*, 333.
21. RIST, N., Le pouvoir pathogène et allergisant des bacilles tuberculeux morts enrobés dans de l'huile de paraffine. *Adv. in Tuberc., Research.* (Basel), 1951, *4*, 91.
22. ASSELINEAU, J., Lipides du bacille tuberculeux. *Progrès de l'exploration tuberculeuse*, 1952, *5*, I. Karger, Bâle.
23. —— BUC, M., JOLLES, P. et LEDERER, E., Sur la structure chimique d'une fraction peptido-glycolipidique (Cire D) isolée de « Mycobacterium tuberculosis » var. Hominis. *Bull. Soc. Chim. Biol.* (Paris), 1958, *40*, 1933.
24. LEDERER, E., Structure chimique et activité biologique des lipides du bacille tuberculeux. *III^e Corso Estiva di Chimica*, 1958, in « Sostanze naturali » p. 134.
25. —— Glycolipide and Acid fast bacteria. *Advances in Carbonhydrate Chemistry*, 1961, *16*, 207.
26. FREUND, J., Some aspects of active immunization. *Annal. Rev. Microb.*, 1947, *I*, 291.
27. —— et MCDERMOTT, K., Sensitization to horse serum by means of adjuvants. *Proc. Soc. Exp, Biol.* (N.Y.), 1942, *49*, 548.
28. —— et BONANTO, M. V., The effect of paraffin oil, lanolin like substances and killed tubercle bacilli on immunization with diphteria toxoïd and Bact. Typhosium. *J. Immunol.*, 1944, *48*, 325.
29. —— STERN E. R. et PISANI, T. M., Iso allergic encephalomyelitis and radiculitis in guinea-pigs after one injection of brain and mycobacteries in oil emulsion. *J. Immunol.*, 1947, *57*, 179.
30. —— et WALTER, A. J., Saprophytic acide fast bacilli and paraffin oil adjuvants in immunization. *Proc. Soc. Exp. Biol.* (N.Y.), 1944, *55*, 47.
31. RIST, N., Lésions ganglionnaires et pulmonaires produites chez le cobaye par inoculation de bacilles tuberculeux morts enrobés dans l'huile de paraffine ou l'huile de vaseline. *C.R. Soc. Biol.* (Paris), 1937, *I*, 185.
32. —— De l'allergie conférée par les bacilles tuberculeux morts enrobés dans l'huile de paraffine. *Thèse*, Paris, 1938.
33. RAFFEL, S. et FORNEY, J. E., The role of the wax of tubercle bacillus in establishing delayed hypersensivity. *J. Exp. Med.*, 1948, *88*, 485.
34. —— ARNAUD, L., DUKES, D., et coll. The role of the wax of tubercle becillus in delayed hypersensitivity. *J. Exp. Med.*, 1949, *90*, 53.
35. —— Delayed infection allergy. *J. Infections Dis.*, 1948, *82*, 267.
36. WAKSMAN, B. H. et DUMAS, R. D., Tubercle bacillus lipopolysaccharide as adjuvant: is the production of experimental allergic encephalomyelitis in rabbits. *J. Infec. Dis.*, 1953, *93*, 21.
37. KABAT, E. A., WOLF, A. et BEZER, A. E., The rapid production of acute disseminated encephalomyelitis in rhesus monkeys by injection of heterologous and homologous brain tissue with adjuvants. *J. Exp. Med.*, 1947, *85*, 117.
38. —— Studies on acute disseminated encephalomyelitis produced experimentally in rhesus monkeys. *J. Exp. Med.*, 1948, *88*, 417.
39. WAKSMAN, B. H. et MORRISSON, L. R., Tuberculin type sensitivity to spinal cord antigen in rabbits with isoallergic encephalomyelitis. *J. Immunol.*, 1951, *66*, 421.
40. —— Experimental allergic encephalomyelitis and the « auto-allergic » diseases. *Int. Arch. All. Suppl.*, 1959, *14*, 1.
41. —— PEARSON C. M., et SHARP, J. I., Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant. II. Evidence that the disease is a disseminated immunologic response to exogenous antigen. *J. Immunol.*, 1960, *83*, 403.
42. EJDEN, J. et KOURILSKY, R., à paraître.
43. CHARGAFF, E. et SCHAFFER, W., Analyses sérologiques des différentes fonctions lipoïdiques du B.C.G. *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, *54*, 708.
44. HEIDELBERGER, M. et MENZEL, A., Specific and non specific cell polysaccharides of a human strain of tubercle bacillus H37. *J. Biol. Chem.*, 1937, *118*, 79.
45. LAIDLOW, P. et DUDLEY, H., A specific precipiting substance from tubercle bacilli. *Brit. J. Exp. Path.*, 1925, *6*, 197.
46. SEIBERT, F. M., The isolation of three different proteins and polysaccharide from tuberculin by alcool fractionation. *Am. Rev. Tuber.*, 1949, *59*, 86.

47. SORKIN, E. et BOYDEN, S., A study of antigens active in the Middlebrook-Dubos hemagglutination test present in filtrat of culture of Mycobacterium tuberculosis. *J. Immunol.*, 1955, *75*, 22.
48. STACEY, M., Mycobacterium polysaccharide. *Adv. in Tuber.* (Basel), 1955, *6*, 7.
49. CHOUCROUN, N., Precipitation test for carbohydrate antibodies in human tuberculosis. *Am. Rev. Tuber.*, 1949, *59*, 710.
50. HEIDELBERGER, M. et KENDAL, F. E., The precipitive reaction between type III pneumococcus polysaccharide and homologous antibody. *J. Exp. Med.*, 1935, *61*, 563.
51. KOURILSKY, R. et GRESLAND, P., Les anticorps polysaccharidiques dans les sérums des tuberculeux. *Arch. Biol. Med.*, 1956, *5*, 1.
52. GRESLAND, P., Signification des anticorps polysaccharides précipités dans le sérum des tuberculeux par un antigène-haptène du bacille de Koch. *Thèse Méd.*, Paris, 1956.
53. DIENNES, L. and SCHOENHEIT, E. U., Local hypersensitiveness. Sensitization of tuberculous guinea-pigs with egg-white and timothy pollen. *J. Immunol.*, 1928, *14*, 9.
54. KOURILSKY, R., GRESLAND, P. et CHOUCROUN, N., Signification de la présence d'anticorps polysaccharidiques dans les sérums des tuberculeux. 2e Congrès international de Biologie clinique, Washington, sept. 1954.
55. —— P. GRESLAND et N. CHOUCROUN, Evolution des anticorps polysaccharidiques dans le sérum des tuberculeux. *Bull. Acad. Nat. Med.* (Paris), 1954, *29-30*, 471.
56. CHOUCROUN, N., Réaction de précipitation permettant de déceler dans le sérum de tuberculeux et aussi de lépreux des anticorps précipités par un polysaccharide du bacille tuberculeux. *C.R. Acad. Sc.* (Paris), 1949, *229*, 145.
57. BASSET, R. et CHOUCROUN, N., Recherches de dosages d'anticorps polysaccharidiques dans les sérums de lépreux. *Bull. Soc. Derm. et syphyl.*, 1953, *1*.
58. BURTIN, P. et KOURILSKY, R., Recherches immunologiques sur les antigènes et haptènes du bacille tuberculeux. I. Dénombrement et identification des constituants précipitants avec les immuno-sérums spécifiques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, *97*, 148.
59. —— Recherches immunologiques sur les antigènes solubles des bacilles tuberculeux. II. Etude immunologique de deux polysaccharides présents dans les filtrats de culture du bacille tuberculeux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, *97*, 325.
60. HAWORTH, W. N., KENT, P. W. et STACEY, M., The constitution of a lipoid bound polysaccharide from M. Tuberculosis (Herman Strain). *J. Chem. Soc.*, 1948, 1220.
61. ASSELINEAU, J. et LEDERER, E., Progrès récents dans la chimie des lipides du bacille tuberculeux. *Experentia* (Basel), 1951, *7*, 281.
62. SEIBERT, F. B., STACEY, M. and KENT, P. W., An antigenic poiysaccharide « Polysaccharide II » isolated from tuberculin. *Bioch. Bioph. Acta*, 1949, *3*, 632.
63. —— FIGUEROA E. et DUFOUR, E., Isolation, identification and classification of proteins of tuberculin and the tubercle bacillus. *Ann. Rev. Tuber.*, 1955, *71*, 704.
64. KABAT, E. A., TURINO, G. M. and coll., Studies on the immunochemical basis of allergic reactions to dextran in man. *J. Clinical Investigation*, 1937, *36*, 1160-1170.
65. VOISIN, G. A. et TOULLET, Fr., Etude sur l'hypersensibilité, *Ann. Inst. Pasteur*, 1963, *104*, 169.
66. TOULLET, Fr., Etude de la perméabilité vasculaire au cours de réactions cutanées à la tuberculine. *Thèse Médecine*, Paris, 1959.
67. VOISIN, G. A. et TOULLET, Fr., Communication personnelle.
68. ASSELINEAU, J. et LEDERER, E., Sur les différences chimiques entre les souches virulentes et non virulentes du M. Tuberculosis. *C.R. Acad. Sci.* (Paris), 1950, *230*, 142.
69. —— Les lipides bactériens; actualités scientifiques et industrielles. *Hermann. Edit.*, Paris, 1962, 184.
70. MENKES, M. et KOURILSKY, R., à paraître.

Manuscrit reçu le 31 août 1964.