

Zeitschrift: Acta Tropica
Herausgeber: Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)
Band: 5 (1948)
Heft: 4

Artikel: Les sérums précipitants : fabrication et limitation dans le temps de leur emploi pour la détermination du sang ingéré par les insectes hématophages
Autor: Holstein, M.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-310172>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 06.02.2025

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

Les sérums précipitants.

Fabrication et limitation dans le temps de leur emploi pour la détermination du sang ingéré par les insectes hématophages.

Par M. HOLSTEIN.

(Reçu le 10 mai 1948.)

Les expériences faites par KRAUS en 1897 (20), et qu'il devait poursuivre plus tard (21, 22), montraient que le sérum des animaux inoculés avec des bactéries virulentes donnait un précipité quand il était ajouté au bouillon de culture, filtré, des mêmes bactéries ; par contre, lorsqu'il était ajouté à des bouillons de culture, filtrés, de bactéries différentes des bactéries inoculées, le précipité ne se formait pas. Ces constatations devaient amener TCHISTOVICH (57) et BORDET (1) à des recherches plus larges et BORDET et GENGOU (2) pouvaient formuler en 1901 : « Si on ajoute à un animal A le sérum d'une espèce différente B, le sérum de l'animal traité, extrait après un certain temps, produit un précipité volumineux, de nature albuminoïde, dans ce sérum d'espèce B. » A la suite de ces travaux, de nombreuses études se développèrent qui aboutissaient à la notion précise des sérums précipitants et des précipitines. Dès l'abord, LINOSSIER et LEMOINE (1902) (25) envisagèrent les applications cliniques des précipitines puis tentèrent d'en codifier le mode d'emploi, doutèrent ensuite de sa spécificité (26) pour, avec FALLOISE (8), reconnaître que celle-ci existe mais est conditionnée par un certain nombre de facteurs (27, 28) tels la température, l'acidité et l'alcalinité, la dilution.

Pendant ce temps, des recherches se développaient parallèlement en Grande-Bretagne et en Allemagne.

En Grande-Bretagne, NUTTALL (1901) exposait les principes de la méthode biologique (faisant appel aux réactions de précipitation) de la détermination du sang (38, 39, 40). Puis, avec DINKELSPIEL (46), il faisait prévoir qu'elle pourrait être utilisée, par l'étude des réactions croisées entre sérums et antisérums d'espèces différentes, pour l'établissement des relations existant entre les espèces animales et, partant, pour une éventuelle révision de la classification zoologique. Plusieurs notes (41, 42, 43, 44) devaient amener NUTTALL à l'exposé des recherches qu'il avait poursuivies et qu'il

consignait dans un ouvrage, en 1904 (45). Se basant sur le fait qu'un sérum précipitant préparé à l'aide du sérum d'une espèce donnée précipite, quoique faiblement parfois, le sérum d'espèces différentes, il montrait que la précipitation était d'autant moins nette que les espèces expérimentées étaient plus éloignées, sur l'échelle zoologique, de l'espèce dont le sérum avait servi à la préparation du sérum précipitant. Il établissait ainsi, par l'étude approfondie des précipitations « de groupe » et « d'extra-groupe », des relations de parenté entre les diverses espèces animales, relations extrêmement importantes tant au point de vue de l'utilisation de la méthode des précipitines en laboratoire et de sa spécificité que du point de vue, plus général, de l'évolution des espèces.

En Allemagne, par ailleurs, UHLENHUTH se préoccupait des mêmes problèmes posés par l'utilisation de la méthode des précipitines. Il arrivait aux mêmes conclusions que NUTTALL en ce qui concerne les relations de parenté (60) et en poussait l'étude dans le sens de la différenciation des sangs humains et de singes supérieurs (62, 64). En même temps, il se penchait sur l'application de la méthode au diagnostic médico-légal des taches de sang (61), de même que WASSERMANN et SCHÜTZE (70).

Le 20 mai 1908, dans une séance de la Société Médicale de Berlin, UHLENHUTH (63) jetait les bases de l'emploi de la méthode des précipitines dans la détermination de l'origine du sang ingéré par les insectes hématophages. Ses expériences, continuées avec WEIDANZ et ANGELOFF (68), devaient aboutir en 1909 à l'énoncé d'une méthode de détermination de l'origine du sang basée sur la technique capillaire de HAUSER (67). Cette méthode, qui devait être reconnue comme la plus pratique et la plus sûre, faisait l'objet de précisions ultérieures (65, 66).

De très nombreuses études ont eu lieu, à la suite des travaux d'UHLENHUTH et NUTTALL, sur les applications et les modalités de la méthode des précipitines. Sa spécificité, longuement discutée, a fait l'objet de nombreuses communications contradictoires : DERVIEUX et LECLERC (1912) (6), FRIEDBERGER et COLLIER (1919) (11), REESER (1919) (49), FRIEDBERGER et JARRE (1920) (10), MANTEUFEL et BEGER (1922) (31, 32), FRIEDBERGER et MEISSNER (1923) (9), DOURIS et RICARDONI (1924) (7), MEISSNER (1926) (34), ROSENBERG (1926) (52), etc., des méthodes ont été proposées pour la lui assurer, la méthode de saturation de NICOLAS (36, 37) par exemple, mais son importance et les résultats précieux qu'elle fournit sont indiscutables.

Dans le domaine de l'épidémiologie des maladies transmises par les insectes, la méthode des précipitines joue un rôle capital. C'est la connaissance des préférences trophiques des hématopha-

ges qui permet de déterminer le mode de transmission des maladies contagieuses épidémiques qu'ils véhiculent et, partant, de se prémunir contre elles ; c'est sur la zoophilie et l'anthropophilie des espèces étudiées que l'on peut baser une lutte sévère contre les insectes pathogènes. Les recherches de ROUBAUD (1920) (53) sur *Anopheles maculipennis*, montrant l'importance de la nutrition des Anophèles et les conséquences pratiques incomparables que l'on tirait de sa connaissance, ont ouvert la voie à l'étude de leurs habitudes trophiques et, plus largement, de celles des insectes vecteurs de maladies. Les travaux sont extrêmement nombreux, particulièrement en ce qui concerne les Anophèles transmetteurs du Paludisme. Nous citerons, parmi eux, ayant à revenir sur ces auteurs soit pour la préparation des sérums précipitants soit pour les modalités mêmes de la technique du test des précipitines, les travaux de MISSIROLI et HACKETT (35) en Italie, de TOUMANOFF (58) en Extrême-Orient, RAYNAL et GASCHEN (48) en Indochine Nord, WALCH et SARDJITO (69) aux Indes Néerlandaises, LAUREL (23) dans le Pacifique, DAVIS et SHANNON (5) en Argentine, KING et BULL (17, 18) en Amérique du Nord, ainsi que l'étude de RICE et BARBER (50) en Grèce. PRATES (47) a appliqué la méthode des précipitines à l'étude des préférences trophiques des Glossines dans l'Uganda, LLOYD, NAPIER (30) et SMITH (29) au repas sanguin des Phlébotomes.

Outre l'identification du sang ingéré par les insectes hématophages, la réaction des précipitines est utilisée pour le diagnostic des taches (sang, urine, sperme, etc.) en médecine légale, l'identification des viandes, et des produits alimentaires contenant des substances protéiques ; elle sert en outre à l'identification de certaines bactéries, de parasites du sang et, en clinique, est utilisée, en particulier, pour le diagnostic des kystes hydatiques (71, 72).

Enfin les précipito-réactions deviennent une pratique courante pour déterminer la durée de la présence du sang dans le tractus intestinal des insectes hématophages.

Pour les *Anophèles*, BULL et KING (4) ont montré que l'épreuve des précipitines était négative ou, tout au moins, douteuse lorsque la réaction était effectuée sur des insectes gorgés depuis plus de 24 heures.

Pour les *Glossines*, PRATES (47) a considéré que les précipito-réactions effectuées avec des sangs qui avaient séjourné plus de 48 heures dans le tractus intestinal donnaient des résultats auxquels on ne pouvait se fier.

En ce qui concerne les *Phlébotomes*, LLOYD, NAPIER et SMITH (29, 30) ont montré que les précipito-réactions étaient encore positives 8 jours après le repas de sang.

Pour les *Poux*, MARTINI (33) a signalé récemment (1946) que la digestion du sang est terminée au bout de 5 heures.

Enfin ROMAÑA (51) expérimentant sur des larves de *Rhodnius prolixus* et des *Triatoma*, a démontré que les résultats sont positifs et spécifiques 30 jours encore après le repas sanguin.

Sur les conseils du Professeur ROUBAUD et l'occasion nous étant offerte de travailler dans le laboratoire du Professeur UHLENHUTH, nous avons repris cette étude. Les insectes mis à notre disposition étaient des *Pediculus corporis* et des *Cimex lectularius*, dont l'intérêt en médecine tropicale est très grand. En effet, *P. corporis* est vecteur du Typhus exanthématique épidémique, de la fièvre récurrente cosmopolite, de la fièvre des tranchées. Quant à *C. lectularius*, qui peut servir d'hôte vicariant au cours d'épidémies de spirochètoses, elle a été accusée, au Brésil, de transmettre un typhus exanthématique, fait rapporté par BRUMPT (3) qui a démontré expérimentalement, en outre, qu'elle peut transmettre *Trypanosoma cruzi*, *T. lewisi* et *T. duttoni*.

Préparation des sérums précipitants.

Nous avons, dès l'abord, rejeté un certain nombre de méthodes qui ne nous semblaient pas praticables tant par la lenteur des opérations qu'elles entraînaient que par les complications techniques qu'elles demandaient.

A. — Ceci concerne, en premier lieu, la méthode de BARANGY, et sa modification par LAUREL (24). Elle nécessite 20 cc. de sérum au minimum et un laps de temps trop élevé pour qu'elle devienne largement utilisable dans la pratique du laboratoire.

B. — La méthode utilisée par WALCH et SARDJITO (69) aux Indes Néerlandaises, dérivée de celle instaurée par TSUKASAKI (59), consistait à injecter comme antigène le précipité obtenu par le sérum dans l'alcool. Outre que la préparation du précipité est longue, les auteurs reconnaissent avoir abandonné, devant la forte mortalité par embolie qu'elle entraînait, l'injection intraveineuse au profit de l'injection intra-péritonéale ; or le Professeur UHLENHUTH nous a exposé les nombreux déboires auxquels on s'exposait en recourant à l'injection intra-péritonéale qu'il a, pour sa part, à peu près complètement abandonnée.

C. — La méthode de KING et BULL (17) n'a pas été suivie en raison de sa longueur et de son peu de pratique. Elle exige plus d'un mois de temps et oblige, pour éviter le choc anaphylactique, à pratiquer des injections supplémentaires de sérum pur sous-cutané et de sérum dilué par voie intraveineuse. En outre MEISS-

NER (34) a montré que cette méthode présentait le grand désavantage de fournir des antisérums dont l'aspécificité était établie dans un grand nombre de cas.

D. — Ayant à notre disposition une quantité importante de sérum et nos expériences ne portant que sur le sang humain, nous n'avons pas utilisé la méthode dite « des petites doses » de ROMANA (51) qui semble, les sérums précipitants étant obtenus au moyen de faibles quantités, diluées, d'antigène, devoir être très utile lorsqu'on a affaire à des animaux de petite taille, donc contenant peu de sang, et, en général, en toute occasion où la quantité d'antigène disponible est réduite.

E. — Enfin nous avons jugé inutile, faute de temps et de lapins, d'essayer un certain nombre de méthodes, faisant plus ou moins appel à des combinaisons de sérums avec des produits chimiques divers, dont nous citerons les auteurs pour mémoire : GELL, HARRINGTON et RIVERS (1946) (12), HEKTOEN et WELKER (1933) (14), HIRSCH (1923) (16), KOLMER et BOERNER (1941) (19).

Nous avons, pour la fabrication des antisérums, utilisé 3 méthodes :

1^o Méthode longue (tableau n^o 1).

L'antigène injecté était du sérum humain recueilli 3 jours avant la 1^{re} injection et conservé en glacière, filtré sur porcelaine et stérile. L'inoculation était faite par voie intraveineuse. (Nous signalons à ce propos que l'on fait apparaître et saillir la veine marginale de l'oreille du lapin en la frottant vigoureusement quelques secondes avec du coton imprégné de Xylol.)

Les injections, au nombre de trois, étaient séparées entre elles par trois à six jours et fractionnées. La première était de 3 cc., la seconde de 2 cc., la troisième de 1,5 cc. Ce fractionnement était utilisé pour éviter un choc anaphylactique ; de fait, les lapins n'ont ni présenté de troubles ni perdu sensiblement de poids.

Le test était pratiqué six jours après la dernière injection : quelques centimètres cubes de sang étaient prélevés à l'animal par ponction veineuse. Lorsque le test s'avérait négatif et que, donc, le sérum de l'animal ne contenait pas de précipitines, une nouvelle série d'injections était pratiquée après un repos de quatre à six jours. Cette nouvelle série comprenait 3 injections espacées par trois à cinq jours et de 2 cc. chacune. Un deuxième test était alors pratiqué après six jours de repos. Le total d'antigène injecté était de 6,5 cc. pour la première série, de 6 cc. pour la deuxième.

Lorsque le premier — ou le deuxième — test était positif (cf. plus loin le contrôle du titre et de la spécificité des antisérums), le sang de l'animal était prélevé aseptiquement soit, après ouverture de la cage thoracique et incision du cœur, en recueillant rapidement le sang écoulé au moyen de pipettes (paraffinées intérieurement pour ralentir la coagulation), soit, après l'avoir dénudée, en introduisant une canule paraffinée dans la carotide. Le sang était ensuite réparti dans des tubes stériles de 3 centimètres de diamètre intérieur et de 15 de hauteur, portant le numéro de l'animal. Dès le début de la coagulation le caillot était séparé du sérum au moyen d'une platine à ensemencement préalablement portée au rouge puis, après un repos de vingt-quatre heures, les tubes étaient portés dix minutes à la centrifugeuse. Le sérum recueilli était filtré sur filtre Berkefeld puis distribué dans des ampoules de 1 cc., scellées à la flamme et étiquetées (n° du lapin, titre, spécificité, date de l'obtention). Celles-ci étaient mises à la glacière et conservées ainsi très longtemps sans que l'antisérum ne perde son titre ou sa spécificité ainsi que nous avons pu l'expérimenter nous-mêmes (appendice 1). La seule condition pour une parfaite conservation était une stérilité absolue. Nous nous en assurons de la façon suivante : dans un tube contenant de l'Agar dilué et tiédi à 45° nous ajoutons une goutte du sérum précipitant ; le contenu du tube était vidé sur une lame placée dans une boîte de Petri. Par ailleurs, dans un tube contenant du bouillon nutritif de viande nous ajoutons également une goutte d'antisérum. La lame et le tube étaient placés à l'étuve à 37° ; leur stérilité, après six jours, démontrait l'absence de germes.

Avec cette méthode d'obtention des antisérums, les précipitines apparaissaient, dans 50 % des cas, dès la fin de la première série d'injections. Le titre était de 1/20.000 pour le tiers des animaux, de 1/40.000 pour les deux tiers. La spécificité était remarquable, comme nous le verrons plus loin.

Tableau I. Antigène injecté: Sérum humain. - Voie intraveineuse. « Méthode longue »

Animal No	1 ^{re} injection		2 ^e injection		3 ^e injection		1 ^{er} test		4 ^e injection		5 ^e injection		6 ^e injection		2 ^e test		Titre de l'antisérum
	date	cc.	date	cc.	date	cc.			date	cc.	date	cc.	date	cc.			
52	9. 1	3	13. 1	2	16. 1	1,5	22. 1	+									1/40.000
53	9. 1	3	13. 1	2	16. 1	1,5	22. 1	ø	26. 1	2	29. 1	2	3. 2	2	9. 2	+	1/40.000
96	9. 1	3	13. 1	2	16. 1	1,5	22. 1	+									1/40.000
61	12. 1	3	16. 1	2	19. 1	1,5	25. 1	+									1/20.000
68	12. 1	3	16. 1	2	19. 1	1,5	25. 1	ø	1. 2	2	6. 2	2	11. 2	2	17. 2	+	1/20.000
85	14. 1	3	18. 1	2	21. 1	1,5	27. 1	ø	31. 1	2	3. 2	2	8. 2	2	14. 2	+	1/40.000

2^o Méthode « rapide » de Wolfe (tableau n^o 2).

L'antigène injecté était du sérum humain recueilli dans les mêmes conditions que précédemment. L'inoculation était faite par la voie intraveineuse.

Cette méthode consistait à injecter aux lapins 3 cc. de sérum en trois fois : 0,5 cc. la première fois, 1 cc. la deuxième et 1,5 cc. la troisième. Les injections étaient faites un jour sur deux. Le test était pratiqué dix jours après la dernière injection. En essayant cette méthode, nous avons constaté que deux animaux seulement sur six répondaient à cette série d'injections. Pour les quatre autres, nous avons recommencé une série de trois injections, faites un jour sur deux, mais de 1 cc. chacune. Le test a été, alors, positif et nous avons mis en évidence des antisérums dont le titre et la spécificité ne différaient sensiblement pas de ceux des antisérums obtenus par la méthode précédente.

Tableau 2. Antigène injecté: Sang humain. - Voie intraveineuse. Méthode « Rapide » de Wolfe

Animal No	1 ^{re} injection		2 ^e injection		3 ^e injection		1 ^{er} test		4 ^e injection		5 ^e injection		6 ^e injection		2 ^e test		Titre de l'antisérum
	date	cc.	date	cc.	date	cc.			date	cc.	date	cc.	date	cc.			
48	11.1	0,5	13.1	1	15.1	1,5	25.1	+									1/20.000
49	11.1	0,5	13.1	1	15.1	1,5	25.1	+									1/40.000
50	11.1	0,5	13.1	1	15.1	1,5	25.1	ø	26.1	1	28.1	1	30.1	1	9.2	+	1/40.000
82	16.1	0,5	18.1	1	20.1	1,5	30.1	ø	1.2	1	3.2	1	5.2	1	15.2	+	1/20.000
91	16.1	0,5	18.1	1	20.1	1,5	30.1	ø	1.2	1	3.2	1	5.2	1	15.2	+	1/20.000
92	20.1	0,5	22.1	1	24.1	1,5	3.2	ø	4.2	1	6.2	1	8.2	1	19.2	+	1/40.000

Devant les résultats un peu décevants de cette technique, nous avons essayé une méthode nouvelle :

3^o Méthode « au glucose » (tableau n^o 3).

L'antigène injecté était le même que précédemment ainsi que le mode d'injection (voie intraveineuse).

Nous avons injecté 6,5 cc. de sérum en trois fois. Les quantités, à chaque injection, étaient les mêmes que celles de la méthode longue, c'est-à-dire 3 cc., 2 cc. et finalement 1,5 cc. L'intervalle entre chaque inoculation était de trois jours. En outre, ce qui fait la nouveauté de la technique, deux heures avant l'injection de l'antigène, nous avons inoculé à l'animal 10 cc. d'une solution de glucose à 10 % en eau physiologique à 0,85 % de ClNa.

Le test, pratiqué trois jours après la dernière injection, nous a montré que 70 % des lapins environ donnaient un sérum précipitant dès cette première série d'injections. Pour les 30 % restants, une deuxième série de deux injections de 2 cc. chacune nous a per-

mis d'obtenir les sérums précipitants qui n'avaient pu être mis en évidence dès la première série. Titre et spécificité étaient identiques à ceux constatés avec les deux méthodes précédentes.

Il semble donc que cette méthode « au glucose » permette d'obtenir des sérums précipitants, à titre élevé et spécifique, utilisables plus rapidement — 9 jours suffisent — et plus sûrement — 70 % dès la première série — que par le moyen des autres méthodes décrites. Le faible nombre de lapins dont nous disposions ne nous a pas permis d'expérimenter cette méthode sur une grande échelle mais nous pensons continuer ces recherches.

Par ailleurs, des travaux récents faits en Allemagne, Suisse et Roumanie sur la production des anticorps nous font penser qu'une nouvelle orientation peut être donnée aux méthodes employées pour la fabrication des antisérums. Nous nous proposons d'en faire ultérieurement l'expérience.

Pendant que nous essayions les trois méthodes précédentes, nous avons cherché à injecter à des lapins du sérum humain frais mais par la voie suboccipitale. Nos essais ont été malheureux puisque nous avons ainsi provoqué chez ces animaux un choc anaphylactique caractérisé suivi, en quelques heures, de la mort. De même l'injection à un lapin de 1 cc. d'une solution de sérum sec de Cheval conservé depuis 1910 (3 grammes pour 3 cc. d'eau physiologique) par voie intraveineuse a provoqué des phénomènes analogues.

Tableau 3. Antigène injecté: Sérum humain. - Voie intraveineuse. Méthode au glucose

Animal No	1 ^{re} injection		2 ^e injection		3 ^e injection		1 ^{er} test		4 ^e injection		5 ^e injection		2 ^e test		Titre de l'antisérum
	date	cc.	date	cc.	date	cc.			date	cc.	date	cc.			
64	15. 2	3	18. 2	2	21. 2	1,5	24. 2	ø	25. 2	2	28. 2	2	2. 3	+	1/25.000
65	15. 2	3	18. 2	2	21. 2	1,5	24. 2	+							1/40.000
72	17. 2	3	20. 2	2	23. 2	1,5	26. 2	ø	27. 2	2	1. 3	2	4. 3	+	1/20.000
86	17. 2	3	20. 2	2	23. 2	1,5	26. 2	+							1/40.000
87	18. 2	3	21. 2	2	24. 2	1,5	27. 2	+							1/40.000
75	19. 2	3	22. 2	2	25. 2	1,5	28. 2	+							1/40.000

Contrôle du titre et de la spécificité des antisérums (tableau n° 4).

Nous nous sommes tout d'abord assuré de la limpidité des antisérums pour écarter ceux qui montreraient une opalescence même légère, celle-ci pouvant masquer complètement une réaction (SCHOENHERR, 56) ou en fausser le sens.

Nous avons ensuite éprouvé le titre des antisérums, non par la méthode quantitative de NUTTALL (43, 45) mais par la méthode, plus simple et plus rapide, d'UHLENHUTH (67).

Pour cela, nous avons placé sur un support 8 petits tubes à précipitation stériles. Dans les tubes 1 à 6 nous avons versé 1 cc. de dilutions de sérum humain de 1/1.000, 1/10.000, 1/15.000, 1/20.000, 1/25.000 et 1/40.000 dans l'eau physiologique à 0,85 % de ClNa. Dans le tube 7, 1 cc. de cette eau physiologique et, dans le tube 8, 1 cc. de sérum normal, frais, de lapin. Dans chacun des 8 tubes nous avons, alors, fait couler goutte à goutte, le long de la paroi interne, 0,1 cc. de l'antisérum à éprouver, en prenant bien garde de ne pas mélanger brutalement les deux liquides. Après cinq minutes, nous avons examiné les tubes, en lumière transmise, sur fond noir placé de biais derrière eux. Le titre de l'antisérum était indiqué par la plus forte dilution dans laquelle nous avons constaté l'anneau de précipitation à la surface de séparation des deux liquides. Les tubes 7 et 8, de contrôle, demeuraient parfaitement limpides.

Nous nous sommes attaché, le titre des antisérums étant établi, à en déterminer la spécificité.

Dans ce but, nous les avons mis en présence de dilutions de sérums hétérologues d'espèces animales diverses. Les sérums employés étaient des sérums de Bœuf, Mouton, Cheval, Macaque et Chimpanzé. Les dilutions étaient faites, avec de l'eau physiologique fraîchement préparée et stérile, aux taux de 1/200 et 1/1.000 en ce qui concerne les sérums de Bœuf, Mouton et Cheval, au taux de 1/1.000 pour les sérums de Macaque et de Chimpanzé et pour la dilution-témoin de sérum humain. Enfin de l'eau physiologique servait également de solution-témoin.

Nous avons, pour chaque antisérum, procédé comme suit :

Sur un support, nous avons placé 10 tubes à précipitation, de taille et diamètre identiques, et parfaitement stériles. Nous avons ensuite versé :

- dans le tube 1 : 1 cc. de dilution à 1/200 de sérum de Bœuf.
- dans le tube 2 : 1 cc. de dilution à 1/1.000 de sérum de Bœuf.
- dans le tube 3 : 1 cc. de dilution à 1/200 de sérum de Mouton.
- dans le tube 4 : 1 cc. de dilution à 1/1.000 de sérum de Mouton.
- dans le tube 5 : 1 cc. de dilution à 1/200 de sérum de Cheval.
- dans le tube 6 : 1 cc. de dilution à 1/1.000 de sérum de Cheval.
- dans le tube 7 : 1 cc. de dilution à 1/1.000 de sérum de Macaque.
- dans le tube 8 : 1 cc. de dilution à 1/1.000 de sérum de Chimpanzé.
- dans le tube 9 : 1 cc. de dilution à 1/1.000 de sérum humain.
- dans le tube 10 : 1 cc. d'eau physiologique à 0,85 % de ClNa.

Puis, à chacun de ces tubes a été ajouté précautionneusement 0,1 cc. de l'antisérum (6 gouttes d'une pipette calibrée à 5 mm. de

diamètre), en le faisant couler le long des tubes car, tombant au fond en raison de son poids spécifique, il fallait éviter un mélange des liquides en présence. Nous avons également pris soin de ne pas agiter les tubes après l'adjonction de l'antisérum, la réaction amorcée pouvant, sinon, ne pas être lue nettement.

La réaction s'est montrée positive pour tous les antisérums en présence de la dilution du sérum humain. Par contre nous avons été très surpris de constater que nous obtenions des réactions positives, quoiqu'elles fussent légères, avec les dilutions à 1/200 des sérums hétérologues de Bœuf, Mouton et Cheval. Ces sérums étaient déjà anciens, datant de trois à quatre semaines, et conservés en glacière. (Ils portent le n° 1 dans le tableau 4.) Nous avons pensé que ces réactions aspécifiques provenaient de l'ancienneté des sérums et nous avons fait de nouvelles expériences avec des sérums récoltés la veille (n° 2 dans le tableau 4). Nous avons, sur les 54 réactions pratiquées, enregistré une seule réaction positive. Ce qui tend à prouver qu'il est donc préférable d'employer des sérums frais pour déterminer la spécificité des sérums précipitants.

Tableau 4

Anti-sérum No	Sérum de bœuf				Sérum de mouton				Sérum de cheval				Sérum de macaque 1/1000	Sérum de chimpanzé 1/1000	Sérum homme 1/1000	Eau phy- siolo- gique	
	No 1		No 2		No 1		No 2		No 1		No 2						
	1/200	1/1000	1/200	1/1000	1/200	1/1000	1/200	1/1000	1/200	1/1000	1/200	1/1000					
52	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	0
53	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0
96	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0
61	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
68	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0
85	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0
48	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
49	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
82	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
91	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
92	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
64	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0
65	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
72	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0
86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
87	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
75	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0

Nous avons, en outre, confirmé les données de NUTTALL et d'UHLENHUTH sur les réactions de parenté puisque toutes les réactions pratiquées avec le sérum de Macaque sont restées négatives alors que celles pratiquées avec le sérum de Chimpanzé, singe voisin de l'homme, ont toutes été positives en même temps que, confirmation de la thèse de la « sensibilité » des précipito-réactions de DERVIEUX et LECLERC (6), d'une intensité inférieure à celle des réactions avec le sérum humain (appendice 2).

Enfin les solutions-témoins d'eau physiologique sont restées limpides. Par conséquent les antisérums préparés par les trois méthodes décrites ci-dessus étaient d'une spécificité parfaite vis-à-vis du sérum humain.

Expériences réalisées.

Nous avons utilisé les antisérums que nous avons fabriqués et dont nous avons contrôlé le titre et la spécificité pour déterminer la limitation dans le temps du test des précipitines appliqué à la recherche de l'origine du sang ingéré par certains insectes hématophages, en l'occurrence *Pediculus corporis* DE GEER 1778 et *Cimex lectularius* MERRETT 1667.

Ces insectes, placés par lots dans des boîtes de Wollbach, ont été mis à gorgier sur nous-mêmes durant vingt-quatre heures. Ils ont été ensuite transportés dans des tubes en verre à fond plat, garnis de bandes de papier filtre, et conservés ainsi à la température de l'air extérieur (soit entre 0° et 6° C.).

Technique propre aux Pediculus.

Chaque jour un lot comprenant 2 à 5 Poux était recueilli et placé sur un morceau de papier filtre où chaque insecte était ensuite écrasé au moyen du plat d'un scalpel. (A la fin de chaque expérience, tous les instruments métalliques ayant pu être utilisés : pinces, ciseaux, scalpels... étaient soigneusement portés au rouge pour détruire toute trace de sang pouvant influencer sur les résultats de l'expérience suivante.) Le papier filtre, imprégné de sang, était alors mis à sécher puis découpé en petits fragments que l'on déposait dans un tube à hémolyse étiqueté.

Technique suivie pour les Cimex.

Chaque lot comprenait plusieurs Punaises que nous avons tuées en les décapitant, évitant soigneusement l'emploi de tout anesthésique (particulièrement le chloroforme, pourtant utilisé par KING et BULL [17]) ou produit chimique, susceptibles, ainsi que l'a montré NUTTALL (45), de provoquer des réactions de co-précipitation.

Le corps des Cimex était ensuite sectionné à la jonction du thorax et de l'abdomen puis l'abdomen était pressé de haut en bas, la partie sectionnée étant en contact avec le papier filtre qui pompait le sang. Cette méthode, préconisée par KING et BULL (17) et suivie par de nombreux expérimentateurs, nous a paru plus rapide que l'extraction de l'estomac utilisée par TOUMANOFF (58), RAYNAL et GASCHEN (48) à la suite des indications de MISSIROLI et HACKETT (35), ou que la dissection de l'estomac et le prélèvement du sang à l'aide de fines aiguilles décrites par UHLENHUTH, WEIDANZ et ANGELOFF (68). Pour les Cimex tuées au moment où la détection du sang demandait plus de soin et de précision, c'est-à-dire dans les derniers jours des expériences, nous avons préféré écraser les abdomens sur papier filtre afin de perdre le moins de sang possible. Pour toutes les Cimex, le papier filtre ayant servi à récolter le sang a été traité comme précédemment pour les Pediculus.

Technique commune aux Pediculus et Cimex.

Les différents morceaux de papier filtre de chaque lot de Poux ou Punaises ont été placés dans un petit tube en verre avec 0,5 cc. d'eau physiologique. Ce tube contenait donc uniquement l'extrait de sang d'un lot déterminé de Poux ou Punaises. Il a été ensuite abandonné à la température du laboratoire (16° à 18° C.) pendant 24 heures au cours desquelles il a été agité plusieurs fois. Au bout de ces 24 heures, le liquide a été recueilli à l'aide d'une pipette Pasteur et déposé dans un petit tube à hémolyse stérile. Après filtration, il a été centrifugé, ces deux opérations servant à séparer de l'extrait les fragments d'estomac ou de papier filtre pouvant s'y trouver encore. Au moyen de papier de tournesol nous nous sommes assuré de la neutralité de cette dilution de sang. Le pH joue, en effet, un rôle important, comme l'ont montré NUTTALL (45) et HIRSCH (15). Les précipito-réactions sont le plus facilement lisibles au voisinage du point neutre et nous avons ramené le sérum à ce point, lorsque le besoin s'en faisait sentir, par l'adjonction soit d'une solution diluée de soude N/100 soit d'une solution N/100 d'un acide faible. L'extrait était alors prêt pour l'expérimentation.

Quelques gouttes du liquide servaient tout d'abord au test de la benzidine destiné à contrôler la présence du sang. Celui-ci, mis en présence d'une pincée de benzidine à laquelle on ajoute environ 5 cc. d'acide acétique à 96 % puis 1 cc. d'eau oxygénée à 3 %, donne une belle coloration verte.

Il s'agissait ensuite de procéder à la dilution de l'extrait de

façon à obtenir des dilutions à 1/10, 1/100, 1/1.000 pour les Poux, à 1/10, 1/100, 1/1.000, 1/2.000, 1/5.000, 1/10.000, 1/15.000 et 1/20.000 pour les Punaises. Nous avons, pour cela, modifié le procédé de HAUSER. Celui-ci est basé sur la précipitation des albumines et globulines par la chaleur et l'insolubilité du précipité formé dans l'acide nitrique. Le précipité est plus ou moins abondant selon la dilution du sérum. Nous avons d'abord précipité par la chaleur les albumines de dilutions diverses (1/10, 1/100, 1/1.000) de sérum humain puis nous avons ajouté à chacune des dilutions quelques gouttes d'acide nitrique. Nous avons ainsi obtenu des précipités d'intensités différentes. Nous avons alors appliqué ce même procédé à quelques gouttes de notre extrait de sang à tester en partant donc d'une solution de dilution inconnue mais que, par comparaison avec la dilution de sang humain, nous avons pu étalonner. Il nous a été facile ensuite de faire les diverses dilutions de l'extrait requises par l'expérience à partir de la dilution à 1/10 ainsi déterminée.

Nous avons pratiqué, pour le test même, la méthode décrite par UHLENHUTH et WEIDANZ qui met en pratique la technique capillaire de HAUSER utilisée à des fins médico-légales. A l'aide de pipettes Pasteur, on prélève dans une ampoule quelques gouttes d'antisérum. La pipette est fermée à la flamme. On verse ensuite sur l'antisérum, au moyen d'une pipette Pasteur et en ayant soin de le faire couler le long de la paroi de la pipette contenant l'antisérum (de façon à éviter un mélange brusque qui fausserait la lecture du résultat) quelques gouttes de la dilution d'extrait de sang. La pipette contenant les deux liquides superposés est placée sur un support spécialement conçu à cet effet. Il suffit d'attendre le moment où apparaîtra un anneau de précipité au point de contact de l'antisérum et de l'extrait.

Comme nous voulions des mesures très précises du temps au bout duquel l'anneau était visible, toutes nos expériences ont été faites les unes après les autres et chronométrées. De même pour les expériences de contrôle qui ont été pratiquées suivant la méthode employée par WEIDANZ et UHLENHUTH en médecine légale, méthode peut-être un peu longue mais dont les résultats sont excellents.

Chaque contrôle a été effectué de la façon suivante :

Trois petits tubes à hémolyse étaient placés sur un support, contenant chacun quelques gouttes de l'extrait.

Au tube 1 était ajouté quelques gouttes de sérum anti-Cheval,

Au tube 2 était ajouté quelques gouttes de sérum anti-Chien.

Au tube 3 était ajouté quelques gouttes d'eau physiologique.

Pour les Cimex, nous avons ajouté un tube 4 dans lequel il était versé quelques gouttes de sérum anti-Bœuf.

La réaction était faite, ainsi que la réaction même des précipitines, à la température ordinaire et non à l'étuve à 37° ; nous avons pu, en effectuant quelques réactions dans celle-ci, constater des co-précipitations.

La lecture des résultats était faite en lumière transmise au bout du temps pour lequel la réaction avec du sérum anti-Homme avait été positive. Lorsque celle-ci s'était produite avant 30 minutes, nous attendions 30 minutes pour lire à nouveau le résultat des contrôles.

Résultats.

1° *Pediculus*.

Nous avons pu montrer (tableau n° 5) que l'on peut détecter le sang humain chez ces insectes le 12^e jour après le repas de sang. A la dilution de 1/10, ce sang peut être mis en évidence au bout de 58 minutes.

A la dilution de 1/100, il est décelable le neuvième jour, après 45 minutes.

Enfin, à la dilution de 1/1.000, nous avons constaté, le deuxième jour après le repas de sang, sinon l'anneau caractéristique, du moins un trouble très net et spécifique au bout de 28 minutes.

Le tableau n° 5 fait état d'un lot gorgé le 6. 2. 1948.

Lot No	Date	Dilutions du sang et temps de réaction						Contrôles		
		1/10		1/100		1/1000		1	2	3
1	7. 2	+	1'	+	1'45	+	8'30	ø	ø	ø
2	8. 2	+	1'30	+	2'45	+	13'	ø	ø	ø
3	9. 2	+	2'	+	3'15	T.	28'	ø	ø	ø
4	10. 2	+	4'15	+	6'30	ø	30'	ø	ø	ø
5	11. 2	+	7'30	+	10'30	ø	30'	ø	ø	ø
6	12. 2	+	9'30	+	13'	ø	30'	ø	ø	ø
7	13. 2	+	12'	+	17'30	ø	30'	ø	ø	ø
8	14. 2	+	15'	+	22'	ø	30'	ø	ø	ø
9	15. 2	+	22'	+	31'	ø	60'	ø	ø	ø
10	16. 2	+	28'	+	45'	ø	60'	ø	ø	ø
11	17. 2	+	40'	ø	60'	ø	120'	ø	ø	ø
12	18. 2	+	51'	ø	60'	ø	120'	ø	ø	ø
13	19. 2	+	58'	ø	60'	ø	120'	ø	ø	ø
14	20. 2	ø	60'	ø	120'			ø	ø	ø
15	21. 2	ø	120'					ø	ø	ø

Le signe + indique une réaction positive avec anneau très net.

Le signe T. indique un trouble net, spécifique.

Le signe Ø indique une réaction négative.

Les contrôles sont faits avec

1 : Sérum anti-Cheval.

2 : Sérum anti-Chien.

3 : Eau physiologique.

2° *Cimex*.

A la dilution de 1/10 nous avons obtenu une réaction positive en anneau 36 jours après le repas de sang, au bout de 28 minutes 30 secondes. Le 37^e jour, nous constatons encore un trouble épais après 30 minutes 45 secondes.

Pour les autres dilutions, les résultats positifs se manifestaient, de même que chez *Pediculus*, avec moins de netteté au fur et à mesure que la dilution était plus grande et que le temps entre le repas sanguin et le test était plus long.

Le tableau n° 6 fait état des résultats obtenus avec un lot de *Cimex* gorgées le 28. 1. 1948.

Le signe ++ indique une réaction positive avec anneau très net.

Le signe + une réaction positive avec anneau fin mais très net.

Le signe TT. un trouble épais, spécifique.

Le signe Ø une réaction négative.

Les contrôles sont faits avec

1 : Sérum anti-Cheval.

2 : Sérum anti-Chien.

3 : Sérum anti-Bœuf.

4 : Eau physiologique.

Autant pour les *Pediculus* que pour les *Cimex*, nos expériences ont porté sur plusieurs lots de ces animaux, gorgés à des dates différentes. Nous n'avons pas voulu surcharger ce travail de nombreux tableaux mais les résultats obtenus concordent dans tous les lots. Seules des variations de quelques secondes dans les premiers jours, de trois à cinq minutes dans les derniers jours des expériences, touchant le temps au bout duquel l'anneau de précipitation a été vu, ont été enregistrées. Elles ne jouent pas dans l'appréciation des résultats.

Tableau 6

Lot No	Date	Dilutions du sang et temps de réaction												Contrôles												
		1/10		1/100		1/1000		1/2000		1/5000		1/10.000		1/15.000		1/20.000		1	2	3	4					
1	29.1	+	+	0'45	+	+	1'30	+	+	2'30	+	+	4'45	+	+	7'30	+	12'	+	18'	TT.	22'	o	o	o	o
2	1.2	+	+	1'30	+	+	2'20	+	+	5'45	+	+	9'	+	+	12'30	+	20'45	TT.	24'	o	30'	o	o	o	o
3	3.2	+	+	2'	+	+	3'	+	+	6'30	+	+	10'15	+	+	13'30	+	22'	TT.	26'30	o	30'	o	o	o	o
4	5.2	+	+	2'30	+	+	4'25	+	+	8'20	+	+	11'30	+	+	15'10	TT.	25'15	TT.	29'	o	30'	o	o	o	o
5	8.2	+	+	3'45	+	+	5'45	+	+	12'	+	+	14'30	+	+	18'15	TT.	28'	o	30'			o	o	o	o
6	11.2	+	+	4'30	+	+	6'30	+	+	14'45	+	+	16'	TT.	19'30	o	30'						o	o	o	o
7	13.2	+	+	6'	+	+	9'45	+	+	19'	TT.	22'45	TT.	26'	o	30'							o	o	o	o
8	15.2	+	+	7'15	+	+	11'	+	+	23'30	TT.	25'	TT.	28'30	o	30'							o	o	o	o
9	17.2	+	+	8'45	+	+	12'30	+	+	26'	TT.	27'15	o	30'									o	o	o	o
10	19.2	+	+	10'	+	+	14'	TT.	29'	o	30'												o	o	o	o
11	20.2	+	+	11'15	+	+	16'	o	30'														o	o	o	o
12	22.2	+	+	13'30	+	+	18'30	o	30'														o	o	o	o
13	24.2	+	+	15'45	+	+	21'	o	30'														o	o	o	o
14	25.2	+	+	17'	+	+	23'	o	30'														o	o	o	o
15	26.2	+	+	18'30	+	+	24'15	o	30'														o	o	o	o
16	27.2	+	+	19'30	+	+	25'	o	30'														o	o	o	o
17	28.2	+	+	21'	TT.	27'	o	30'															o	o	o	o
18	29.2	+	+	22'15	TT.	28'15	o	30'															o	o	o	o
19	1.3	+	+	23'45	o	30'																	o	o	o	o
20	2.3	+	+	25'30	o	30'																	o	o	o	o
21	3.3	+	+	26'45	o	30'																	o	o	o	o
22	4.3	+	+	28'30	o	30'																	o	o	o	o
23	5.3	TT.	30'45	o	30'																		o	o	o	o
24	6.3	o	30'																				o	o	o	o

Appendice 1.

Certains auteurs préconisent l'emploi de substances préservatrices que l'on ajoute aux antisérums avant de sceller les ampoules et qui permettraient de les conserver de longs mois. *King* et *Bull*, en particulier (17), recommandent d'ajouter dans l'antisérum quelques gouttes du mélange suivant :

Phénol 2 parties
Ether 3 parties

Or, nous avons pu constater que l'adjonction de phénol, même en quantité minime, dans les antisérums, détermine très souvent, au moment de l'emploi, des réactions de co-précipitation qui peuvent fausser complètement le sens d'une enquête épidémiologique, par exemple.

Pour la même raison convient-il de supprimer le phénol dans la formule de dilution des antisérums donnée par *Russell*, *West* et *Manwell* (54) que nous reproduisons ici :

Chlorure de Sodium 4,25 g.
Glycérine neutre 166 cc.
Phénol 2,5 cc.
Eau distillée 330 cc.

et qui est empruntée à *Rice* et *Barber* (50).

Appendice 2.

Les réactions de parenté prennent une très grande importance dans les territoires d'outre-mer où elles peuvent devenir une source d'erreurs d'importance.

En Extrême-Orient, il faut noter que le sérum de Buffle réagit avec le sérum anti-Bœuf et réciproquement, précipitation qui vient s'ajouter aux précipito-réactions croisées entre Bœuf, Chèvre et Mouton. C'est donc sur la « sensibilité » de la réaction, plus que sur sa positivité même, que l'on peut faire le diagnostic de l'origine du sang.

En Afrique noire, par ailleurs, les ruminants voisins du bœuf donnent les mêmes réactions, à des degrés d'intensité différents. En outre, ce qui a son importance dans la détermination du sang ingéré par les Glossines, il convient d'apprécier l'intensité des précipito-réactions notées avec le sang des différentes espèces de Suidés d'une part, de Rongeurs d'autre part.

Appendice 3.

La technique indiquée par *Rice* et *Barber* (50) qui consiste à accoler par cinq les pipettes capillaires contenant les extraits de sang et à en retirer une partie en mettant l'extrémité inférieure des pipettes au contact d'une couche de coton trempé dans une solution physiologique, est très rapide. La couche de coton, qui boit l'extrait, n'étant pas changée après chaque expérience, le risque de faux diagnostic est très grand. Il nous semble que cette technique présente donc un net désavantage.

Nous tenons à remercier M. le Professeur *Roubaud*, grâce à qui ce travail a pu voir le jour et qui nous a guidé utilement dans notre abondante bibliographie. Nous gardons une reconnaissance particulière à M. le Professeur *Uhlenhuth* pour son accueil et ses conseils précieux ainsi qu'au Dr *Schoenherr*, son assistant.

Bibliographie.

1. *Bordet, J.* Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. Ann. Inst. Pasteur, XII, 1898, 688—95.
2. *Bordet, J.*, et *Gengou, O.* Recherches sur la coagulation du sang et les sérums anticoagulants. Ann. Inst. Pasteur, XV, 1901, 129—44.
3. *Brumpt, E.* Précis de Parasitologie. Masson Ed., Paris, 1936, vol. 2.
4. *Bull, C. G.*, et *King, W. V.* The Identification of the Blood Meal of Mosquitoes by means of Precipitin Test. Amer. Journ. of Hyg., III, 1923, n° 3, 353—54.
5. *Davis, N. C.*, et *Shannon, R. C.* The Blood Feeding Habits of *Anopheles pseudopunctipennis* in Northern Argentina. Amer. Journ. Trop. Med., VIII, 1928, n° 5, 443—47.
6. *Dervieux, F.*, et *Leclerc, J.* Le diagnostic des taches en médecine légale. Baillière Ed., Paris, 1912.
7. *Douris, R.*, et *Ricardoni.* Sérums et antisérums précipitants. Bull. Sciences Pharmacol., XXXI, 1924, 95 s.
8. *Fallose, A.* Contribution à l'étude des sérums précipitants. Ann. Inst. Pasteur, XVI, 1902, 833—41.
9. *Friedberger, E.*, et *Meissner, G.* Typus und Wesen der isogenetischen Verwandtschafts- und heterogenetischen Präcipitation mit monogenen Antiseris. Zeitschr. f. Immunitätf. u. exp. Therapie, I. Teil, Originale, Bd. XXXVI, 1923, Heft 2/3, 233.

10. *Friedberger, E., et Jarre, H.* Über aspezifische präzipitierende Sera. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, I. Teil: Originale, Bd. XXX, 351 (1920).
11. *Friedberger, E., et Collier, A.* Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, I. Teil: Originale, Bd. XXVIII, 1919, 237—245.
12. *Gell, P., Harington, C., et Rivers, R.* The Antigenic Function of Simple Chemical compounds: Production of Precipitins in Rabbits. Brit. Journ. Exp. Path., XXVII, 1946, 267 s.
13. *Hektoen, L., Fantus, B., et Portis, S. H.* The Precipitin Test for Blood in Feces. Journ. of Inf. Dis., XXIV, 1919, 482 s.
14. *Hektoen, L., et Welker, W. H.* Precipitin Production in Rabbits following intramuscular Injection of Antigen adsorbed by Aluminum Hydroxide. Journ. of Inf. Dis., LIII, 1933, 309—11.
15. *Hirsch, E. F.* Hydrogen-Ion Concentration Range of Precipitin Reaction. Journ. of Inf. Dis., XXXII, 1923, 439—43.
16. *Hirsch, E. F.* The Preparation of Specific Precipitin as dry Powder. Journ. of Inf. Dis., XXXIII, 1923, 470—76.
17. *King, W. V., et Bull, C. G.* The Identification of the Blood Meal of Mosquitoes by means of Precipitin Test. Amer. Journ. of Hyg., 1923, III, n° 5, 491—96.
18. *King, W. V., et Bull, C. G.* The Blood Feeding Habits of Malaria carrying Mosquitoes. Amer. Journ. of Hyg., 1923, III, n° 5, 497—513.
19. *Kolmer, J. A., et Boerner, F.* Approved Laboratory Technique. New-York, Appleton-Cent. Co., 1941.
20. *Kraus, R.* Über spezifische Reactionen in keimfreien Filtraten aus Cholera, Typhus und Pestbouillonculturen, erzeugt durch homologes Serum. Wien. klin. Wochen., X, 1897, n° 32, 736—38.
21. *Kraus, R.* Wien. klin. Wochen., XIV, 1901, n° 29.
22. *Kraus, R.* Wien. klin. Wochen., XVIII, 1905, n° 32.
23. *Laurel, A. G.* Identification of Ingested Blood in the Stomachs of Anophe-line Mosquitoes by means of Precipitin Test. P. I. Health Serv. Monthl. Bull., 1930.
24. *Laurel, A. G.* Revista Filip. d. Med. y Farm., XXII, novembre 1931, n° 11.
25. *Linossier, G., et Lemoine, G. H.* Sur les substances précipitantes des albumines (précipitines) contenues dans certains sérums spécifiques. C. R. Soc. Biol., LIV, 1902, 85—88.
26. *Linossier, G., et Lemoine, G. H.* Sur la spécificité des sérums précipitants. C. R. Soc. Biol., LIV, 1902, 276—79.
27. *Linossier, G., et Lemoine, G. H.* Sur quelques conditions de l'action des sérums précipitants. C. R. Soc. Biol., LIV, 1902, 320—22.
28. *Linossier, G., et Lemoine, G. H.* Sur la spécificité des sérums précipitants. C. R. Soc. Biol., LIV, 1902, 369—72.
29. *Lloyd, R. B., Napier, L. E., et Smith, R. O. A.* The Blood Meal of Phlebotomus argentipes identified by Precipitin Antisera. Indian Journ. Med. Res., XII, 1925, 811—16.
30. *Lloyd, R. B., et Napier, L. E.* The Blood Meal of Sandflies investigated by means of Precipitin Antisera. Indian Journ. Med. Res., XVIII, 1930, 347—59.
31. *Manteufel, P., et Beger, H.* Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, I. Teil: Originale, Bd. XXXIII, 1922, 348—74.
32. *Manteufel, P., et Beger, H.* Untersuchungen über unspezifische Reaktionen bei präzipitierenden Antiseren. Zeitschr. f. Immun. u. exp. Ther., I. Teil: Originale; Bd. XXXIV, 1922, 357—60.
33. *Martini, E.* Lehrbuch der medizinischen Entomologie. G. Fischer, Jena, Ed., 1946, 633 pp.

34. *Meissner, G.* Beitrag zur Frage der Herstellung hochwertiger, spezifischer präzipitierender Sera für forensische Zwecke. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit., I. Abt., Originale, 1926, Bd. C, 258—70.
35. *Missiroli, A., et Hackett.* L'utilisation de la méthode des précipitines pour la détermination de la provenance du sang absorbé par les Anophèles. Soc. des Nations. Organisation d'Hygiène. Commission du Paludisme. C. H. Malaria 131, 23 mai 1929.
36. *Nicolas, E.* Spécificité et aspécificité des sérums précipitants. Méthode de saturation. C. R. Soc. Biol., CIX, 1932, 1249—52.
37. *Nicolas, E.* Spécificité et aspécificité des précipitines. Méthode de saturation. Bull. Acad., Vétérin., XVII, 1944, 77—78.
38. *Nuttall, G. H. F.* The recognition of Human Blood. Brit. Med. Journ., 1901, n° 1, 30 mars, 788.
39. *Nuttall, G. H. F.* Amer. Naturalist, XXXV, 1901, 927—32.
40. *Nuttall, G. H. F.* Journ. of Hyg., I, 1^{er} juillet 1901, 367—87.
41. *Nuttall, G. H. F.* A further note on the biological test for blood and its importance in zoological classification. Brit. Med. Journ. 1901, n° 2, 14 septembre, 669.
42. *Nuttall, G. H. F.* Journ. of Trop. Med., 16 décembre 1901, 405—08.
43. *Nuttall, G. H. F.* Progress report upon the biological test for blood as applied to over 500 bloods from various sources together with a preliminary note upon the method for measuring the degree of reaction. Brit. Med. Journ., 1902, n° 1, 5 avril, 825—27.
44. *Nuttall, G. H. F.* The new biological test for blood in relation to zoological classification. Proc. of the Roy. Soc., LXIX, 1902. 150—53.
45. *Nuttall, G. H. F.* Blood Immunity and Blood Relationship. Cambridge Univ. Press, 1904.
46. *Nuttall, G. H. F., et Dinkelspiel, E. M.* Experiments upon the new specific test for blood. Preliminary note. Brit. Med. Journ., 1901, n° 1, 11 mai, 1141.
47. *Prates, M. M.* La réaction des précipitines appliquée au sang contenu dans le canal alimentaire des Glossines. Rapport final de la Commission Internationale de la S. D. N. pour l'étude de la Trypanosomiase humaine. Genève, mars 1928, C. H. 629, 183—233.
48. *Raynal, J., et Gaschen, H.* L'épreuve des précipitines appliquée aux Anophèles. Résultats en Indochine Nord. Bull. Soc. Path. Exot., XXVIII, 1935, n° 10, 937—43.
49. *Reeser.* Sérums précipitants hétérologues. Rev. gén. Med. Vétér., XXIX, 1919, n° 347. (Orig. in: Meded. v. de Rijksseruminrichting, Afl. 2, Deel II, 1919.)
50. *Rice, J. B., et Barber, M. A.* Malaria Studies in Greece. A modification of the *Uhlenhuth-Weidanz* Precipitin Test for determining the Source of Blood Meals in Mosquitoes and other Insects. Journ. Laborat. Clinic. Med., XX, 1935, 876—83.
51. *Romana, C.* Utilisation de la méthode des précipitines pour l'identification du sang ingéré par certains Réduvidés. Bull. Soc. Path. Exot., XXXII, 1939, n° 6, 625—28.
52. *Rosenberg, R.* Versuche zur Artdifferenzierung von gekochtem Eiweiß mittels der Präzipitinreaktion. Centralbl. f. Bakt. u. Parasit., I. Abt., Originale, 1926, Bd. IIC, 259 s.
53. *Roubaud, E.* Les conditions de nutrition des Anophèles en France (*Anopheles maculipennis*) et le rôle du bétail dans la prophylaxie du Paludisme. Ann. Inst. Pasteur, XXXIV, 1920, n° 4.

54. *Russell, P. F., West, L. S., et Manwell, R. D.* Practical Malariology. Saunders Co., Ed., Philadelphie, 1946, 248—51.
55. *Sato, T.* Über Präzipitintiter und Präzipitingehalt. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, LXXIX, 1933, 117—38.
56. *Schoenherr, K. E.* Über die grundlegende Bedeutung der von *Uhlenhuth* vorgeschriebenen Kontrollen bei der Ausführung seines biologischen Verfahrens der forensischen Blutuntersuchung. Inaug. Dissert. Doktor Med., Freiburg, 1944.
57. *Tchistovich.* Etude sur l'immunité par le sérum d'anguilles. Ann. Inst. Pasteur, XIII, 1899, 406 s.
58. *Toumanoff, C.* L'anophélisme en Extrême-Orient. Contribution faunistique et biologique. Collect. Soc. Path. Exot., n° 4, Masson Ed., Paris, 1936, 331—35.
59. *Tsukasaki, R.* On the Alcohol Precipitate of Serum as Antigen. Tohoku Journ. Exp. Med., III, n° 6, 653—57.
60. *Uhlenhuth, P.* Eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten, im besonderen zum differentialdiagnostischen Nachweise des Menschenblutes. Deutsche Med. Wochen. XXVII, 1901, 82—83.
61. *Uhlenhuth, P.* Praktische Ergebnisse der forensischen Serodiagnostik des Blutes. Deutsche Med. Wochen., XXVIII, 1902, 659—62.
62. *Uhlenhuth, P.* Ein neuer biologischer Beweis für die Blutsverwandtschaft zwischen Menschen- und Affengeschlecht. Deutsch. anthropol. Ges., n° 10, 1904.
63. *Uhlenhuth, P.* Biologischer Nachweis der Herkunft von Blut in Insekten. Berliner klin. Wochen., 1908, n° 22.
64. *Uhlenhuth, P.* Die biologische Verwandtschaft zwischen Mensch und Affe. Deutsche med. Wochen., 1926, n° 46.
65. *Uhlenhuth, P., et Seiffert, O.* Die biologische Eiweißdifferenzierung mittels der Präzipitation mit besonderer Berücksichtigung der Technik. Handb. pathog. Mikroorgan., Jena, 1928, Bd. III, Lfg. 23.
66. *Uhlenhuth, P., et Steffenhagen.* Eiweißdifferenzierung mittelst der Präzipitation unter besonderer Berücksichtigung der Technik. Handb. d. pathog. Mikroorganismen, von *Kolbe* und *Wassermann*, 1913, 2. Aufl., Bd. III.
67. *Uhlenhuth, P., et Weidanz, O.* Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens, Jena, Fischer Ed., 1909.
68. *Uhlenhuth, P., Weidanz et Angeloff.* Über den biologischen Nachweis der Herkunft von Blut in blutsaugenden Insekten. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Berlin, XXVIII, 1908, Heft 3, 595—99.
69. *Walch, E. W., et Sardjito.* Identification of the blood meal of Netherlands Indian Anopheles by means of the precipitin test. Med. Volks. Ned. Indië, XVII, 1928, 234 s.
70. *Wassermann et Schütze.* Über eine neue forensische Methode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Berliner klin. Wochen., 1901, n° 7, 18 février, 187—90.
71. *Welsh, D. A., et Chapman, H. G.* The precipitin reaction in hydatid disease. Australasian Med. Gaz., janv. 1908.
72. *Welsh, D. A., Chapman, H. G., et Storey, J. C.* Some applications of the Precipitin Reaction in the Diagnosis of the Hydatid Disease. Australasian Med. Gaz., décembre 1908.
73. *Wolfe, H. R.* The effect of injection methods on the species specificity of serum precipitins. Journ. Immunol., XXIX, 1935, n° 1, 1—11.
74. *Wolfe, H. R.* The Specificity of Precipitins for Serum. Journ. Immunol., XXXI, 1936, 103—116.

Summary.

Different methods of obtaining precipitating sera have been tested. The long method, commonly used, and WOLFE's so-called "rapid" method not having proved completely satisfactory, attempts were made to modify them. Excellent results were obtained within 9 days by injecting rabbits with 10 c.c. of a solution of 10% glucose in physiological NaCl, 2 hours before the antigen injection.

The precipitating sera obtained have an elevated titre and a high specificity. These sera were applied within the time of reaction of the precipitin method which was used for the determination of the blood absorbed by *Pediculus corporis* and *Cimex lectularius*. Human blood can be demonstrated specifically 12 days after the absorption by *Pediculus* and 36 days after the absorption by *Cimex*.

Zusammenfassung.

Es wurden verschiedene Methoden zur Gewinnung von precipitierenden Sera ausprobiert. Da die länger dauernde, allgemein gebräuchliche Methode sowie auch die sogenannte «Schnell-Methode» nach WOLFE nicht völlig befriedigte, wurde sie modifiziert. Ausgezeichnete Resultate wurden innerhalb 9 Tagen erzielt, wenn den Kaninchen 10 ccm einer 10% Glukoselösung in physiologischer Kochsalzlösung 2 Stunden vor der Antigeninjektion eingespritzt wurden. Die gewonnenen precipitierenden Sera besitzen einen erhöhten Titer und eine hohe Spezifität. Die Sera wurden innerhalb der Reaktionszeit der Precipitin-Methode verwendet, die zur Bestimmung des Blutes, das von *Pediculus corporis* und *Cimex lectularius* aufgenommen wurde, gebraucht wird. Das menschliche Blut kann 12 Tage nach seiner Aufnahme bei *Pediculus* und nach 36 Tagen bei *Cimex* spezifisch nachgewiesen werden.
