Contribution à l'étude de la diagnose du sang humain en médecine légale par le procédé des sérums précipitants (réaction de Bordet-Uhlenhut) : thèse présentée et publiquement soutenue à la Faculté de médecine de Montpellier le 13 juillet 1904 / par Spiridion Syphantos.

Contributors

Syphantos, Spiridion, 1879-
Royal College of Surgeons of England

Publication/Creation

Montpellier : Impr. Gustave Firmin, Montane et Sicardi, 1904.

Persistent URL

https://wellcomecollection.org/works/g8yhdr9m

Provider

Royal College of Surgeons

License and attribution

This material has been provided by This material has been provided by The Royal College of Surgeons of England. The original may be consulted at The Royal College of Surgeons of England. where the originals may be consulted. The copyright of this item has not been evaluated. Please refer to the original publisher/creator of this item for more information. You are free to use this item in any way that is permitted by the copyright and related rights legislation that applies to your use.
See rightsstatements.org for more information.

wellcome collection

Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
https://wellcomecollection.org

N° 9

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE MÉDECINE LÉGALE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE LA

DIAGNOSE DU SANG HUMAIN

EN MÉDECINE LÉGALE

PAR LE PROCÉDÉ DES SÉRUMS PRÉCIPITANTS

(Réaction de Bordet-Uhlenhut)

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 13 Juillet 1904

PAR

Spiridion SYPHANTOS

Né à Corfou (Grèce), le 29 octobre 1879

Pour obtenir le grade de Docteur d'Université

(MENTION MÉDECINE)

MONTPELLIER

IMPRIMERIE GUSTAVE FIRMIN, MONTANE ET SICARDI

Rue Ferdinand-Fabre et Quai du Verdanson

—

1904

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. MAIRET (✲) . . . . . DOYEN
TRUC . . . . . ASSESSEUR

Professeurs

Clinique médicale	MM.	GRASSET (✲)
Clinique chirurgicale		TEDENAT.
Clinique obstétric. et gynécol		GRYNFELTT.
— — ch. du cours, M. VALLOIS.		
Thérapeutique et matière médicale. . . .		HAMELIN (✲)
Clinique médicale		CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerv.		MAIRET (✲).
Physique médicale.		IMBERT
Botanique et hist. nat. méd.		GRANEL.
Clinique chirurgicale.		FORGUE.
Clinique ophtalmologique.		TRUC.
Chimie médicale et Pharmacie		VILLE.
Physiologie.		HEDON.
Histologie		VIALLETON
Pathologie interne.		DUCAMP.
Anatomie.		GILIS.
Opérations et appareils		ESTOR.
Microbiologie		RODET.
Médecine légale et toxicologie		SARDA.
Clinique des maladies des enfants		BAUMEL.
Anatomie pathologique		BOSC
Hygiène.		BERTIN-SANS

Doyen honoraire : M. VIALLETON.

Professeurs honoraires :

MM. JAUMES, PAULET (O. ✲), E. BERTIN-SANS (✲)

M. H. GOT, *Secrétaire honoraire*

Chargés de Cours complémentaires

Accouchements.	MM.	PUECH, agrégé.
Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées		BROUSSE, agrégé.
Clinique annexe des mal. des vieillards. .		VIRES, agrégé.
Pathologie externe		JEANBRAU, agrégé.
Pathologie générale		RAYMOND, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. LECERCLE.	MM. PUECH	MM. VIRES
BROUSSE	VALLOIS	IMBERT
RAUZIER	MOURET	VEDEL
MOITESSIER	GALAVIELLE	JEANBRAU
DE ROUVILLE	RAYMOND	POUJOL

M. IZARD, *secrétaire.*

Examinateurs de la Thèse

MM. SARDA, *président.*	MM. VIRES, *agrégé.*
RODET, *professeur.*	MOITESSIER, *agrégé.*

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation

ΤΗ ΜΑΚΑΡΙΑ ΜΝΗΜΗ

ΤΗΣ ΚΟΜΗΣΣΗΣ

ΕΛΕΝΗΣ ΑΡΜΕΝΗ ΜΟΤΣΕΝΙΓΟΥ

Ελάχιστον ευγνωμοσύνης άφιερωμα

A MES PARENTS

S. SYPHANTOS.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOCTEUR SARDA

PROFESSEUR DE MÉDECINE LÉGALE

Témoignage de vive reconnaissance

A TOUS MES MAITRES

Pour ce qu'ils m'ont enseigné.

A MES AMIS

S. SYPHANTOS.

INTRODUCTION

Une des questions les plus ardues que peut présenter la pratique courante en médecine légale, est celle qui consiste à reconnaître l'origine d'une tache de sang. En effet, jusqu'à ces dernières années, le médecin expert pouvait affirmer d'une manière certaine que les objets maculés, recueillis par le juge d'instruction sur le lieu d'un crime, étaient tachés ou non de sang Mais une question se posait presque insoluble : le sang des taches était-il de nature humaine ou provenait-il d'un animal domestique ou autre ? Voilà ce que la science ne pouvait affirmer que d'une manière fort relative et encore fallait il toujours que les taches en question soient récentes, que les éléments du sang ne soient pas altérés.

Le problème, aussi difficile qu'il paraissait, finit par s'éclaircir grâce à l'orientation nouvelle de la médecine expérimentale pendant ces derniers temps. Les études sur les propriétés bactéricides et cytolycides des sérums révélèrent à Bordet une propriété nouvelle, la propriété précipitante. Cette dernière fut l'objet de nombreuses recherches aussi bien en France qu'à l'étranger. Tous les travaux parus ont contribué à doter la médecine légale d'un procédé nouveau pour le diagnostic de l'origne des taches de sang. Cependant, malgré le nombre des communications et des notes accumulées depuis

cinq ans, la question n'est pas résolue d'une manière définitive. Pour cette raison, nous avons entrepris une série d'expériences dans le but de contrôler la valeur de la méthode et d'en dégager les principales données utiles en médecine légale.

Nous nous proposons de diviser le présent travail en quatre chapitres, les suivants :

Chapitre I. — Historique de la question.
Chapitre II. — Technique de l'expérimentation.
Chapitre III. — Nos expériences.
Chapitre IV. — Conclusions.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE LA

DIAGNOSE DU SANG HUMAIN

EN MÉDECINE LÉGALE

PAR LE PROCÉDÉ DES SÉRUMS PRÉCIPITANTS

(Réaction de Bordet-Uhlenhut)

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Les premières expériences qui ont fait découvrir la propriété précipitante du sang ont été pratiquées par Bordet, de l'Institut Pasteur, en 1899. L'auteur, en injectant du sang défibriné de poule à des lapins, constata dans le sérum des lapins ainsi injectés, en dehors de deux propriétés agglutinante et globulicide, qui faisaient l'objet de ses recherches, une troisième propriété, celle-ci précipitante vis à-vis du sang de poule : c'est-à-dire que le sérum de lapin en présence du sang de poule donnait un précipité abondant. Il répéta son expérience en injectant au cobaye du sang défibriné du lapin. Les mêmes résultats furent obtenus ; le sérum du cobaye injecté donnait un précipité floconneux avec le sang de lapin.

Uhlenhut, se basant sur les conclusions de Bordet, entreprit à l'Institut d'Hygiène de Greifswald une série d'expériences dans le but d'étudier cette propriété précipitante du sang et de diagnostiquer l'espèce à laquelle peut appartenir le sang à examiner.

Il injecta tous les six à huit jours dans la cavité péritonéale du lapin 10 centimètres cubes du sang défibriné de bœuf. Après la cinquième injection, le sérum de lapin se montra précipitant exclusivement à l'égard du sang de bœuf. La même expérience fut répétée avec le sérum de lapin préparé avec du sang humain ; de dix-neuf espèces différentes : cobaye, bœuf, cheval, âne, porc, mouton, chien, chat, cerf, daim, lièvre, rat, souris, lapin, poule, oie, dindon, pigeon, homme, traitées par le sérum de lapin, il n'obtint un précipité que dans le tube où se trouvait du sang humain.

Le sérum de lapin, conservé depuis quatre semaines, fut traité avec succès par des dilutions de sang humain desséché. Dans les mêmes conditions, le sang normal de lapin ne donna absolument rien.

L'auteur appliqua sa méthode à la différenciation des viandes dans les abattoirs et aux étals de bouchers. Cette méthode serait en effet très pratique quand on doit examiner des viandes coupées en nombreux morceaux provenant des animaux d'espèces différentes.

Wassermann et Schutze, sans avoir encore pris connaissance des expériences d'Uhlenhut, ont fait des recherches analogues à l'Institut Bactériologique de Berlin. Ils firent à des lapins des injections sous-cutanées de 10 centimètres cubes de sérum humain tous les deux jours. Une semaine après la dernière injection, les animaux furent sacrifiés et leur sang conservé dans un récipient entouré de glace pour en séparer le sérum. Ce dernier a présenté

la propriété de précipiter le sang humain même très dilué. Le précipité floconneux a été encore plus marqué lorsqu'ils portèrent les tubes dans l'étuve à 37°. Pour bien se rendre compte de la spécificité de la réaction, c'est-à-dire de la précipitation du sérum de l'animal injecté en présence du sang de l'espèce dont il a reçu le sérum dans le tissu cellulaire sous-cutané, ils examinèrent le sang de vingt-trois espèces d'animaux : cheval, âne, chèvre, vache, bœuf, veau, mouton, porc, chien, chat, singe, cobaye, lapin, souris, rat, oie, canard, pigeon, poule, moineau, anguille, brochet, tanche. Dans ces conditions, seul le sang de singe donna un léger précipité dans un laps de temps assez long.

Cette particularité est digne de remarque parce que c'est elle qui provoqua une vive polémique contre la prétendue spécificité des sérums précipitants, ainsi que nous aurons l'occasion de le voir dans la suite de ce travail.

Wasserman et Schutze se demandèrent en plus si la réaction très sensible avec du sang frais se produirait dans les mêmes conditions avec du sang desséché. Avec les vingt-quatre échantillons de sang dont ils disposaient, ils firent des taches sur des tissus de laine ou sur des couteaux en abandonnant ces objets à la dessiccation pendant trois mois. Au bout de ce temps chaque tache fut lavée avec 5 à 6 centimètres cubes de sérum physiologique. Ils prirent 5 centimètres cubes de toutes les solutions après filtration et les additionnèrent de un demi centimètre cube de sérum de lapin injecté comme précédemment avec du sérum humain.

Après avoir porté les tubes dans l'étuve à 37 degrés, ils observèrent, dans l'espace de 20 minutes, un trouble très net dans le tube contenant la solution de lavage des

taches de sang humain. Tous les autres tubes étaient transparents, sauf celui qui contenait des traces de sang de singe. Un quart d'heure après, le tube à sang humain renfermait un précipité floconneux très abondant.

Les différents expérimentateurs ne se sont pas bornés à vacciner les animaux seulement avec les divers sérums. Ils ont poussé la question plus loin et plusieurs liquides albuminoïdes ont été essayés ; ainsi Fich, en Amérique, expérimentant le sérum du lait et autres sérums organiques, arriva aux mêmes conclusions que les auteurs précités.

Schutze injecta à plusieurs lapins du lait de femme, de chèvre, de vache. Il observa ainsi que le sérum de lapin traité par le lait de femme précipitait les substances albuminoïdes du lait de femme sans avoir aucune action sur le lait des autres mammifères.

Leclainche et Vallée, Mertens, Zuegler, Blumenthal ont préparé des lapins par des injections d'urine humaine albumineuse. Ils ont ainsi constaté que le sérum des lapins se montrait actif non seulement vis-à-vis du sérum humain, mais encore vis-à-vis de l'albumine des urines pathologiques.

De Nobele comprenant toute la valeur que pouvait avoir cette nouvelle méthode en médecine légale, l'étudia surtout dans un but pratique et fit de nouvelles expériences d'une grande importance. Opérant lui aussi sur le lapin, il lui faisait des injections intra-péritonéales de 10 centimètres cubes de liquide ascitique provenant d'une femme ayant une tumeur utérine. Après six injections l'animal fut sacrifié et son sérum, mis en présence du sérum humain à parties égales, donna un trouble qui dans la suite se transforma en précipité floconneux. Un autre lapin reçut, tous les trois jours, dans le tissu cellu-

laire sous cutané, 10 centimètres cubes de liquide extrait par compression de placentas humains frais. Après la sixième injection, son sérum se montra actif.

L'auteur se servait pour ses expériences de petits tubes à partie inférieure effilée en cône, de telle sorte que si un précipité s'y formait, il se ramassait dans la partie effilée du tube devenant ainsi très visible même s'il était peu abondant.

Toutes les fois qu'il se servait de sang sec, il le dissolvait à l'aide de la solution normale de Na Cl à 7 °/₀₀ ou avec une solution de soude à 1 °/₀. Il constata ainsi que le sérum des lapins injectés ne donnait aucun précipité avec le sang de chien, de cheval, de chat, de lapin, de cobaye, de mouton, de porc ou de vache ; mais par contre, mis en présence de différents liquides d'excrétions humaines, comme le sérum de lait, le sérum de pus, la salive, la sécrétion nasale du coryza, l'urine albumineuse, il donnait un précipité caractéristique. Des taches de sang humain faites sur de la toile, les unes datant de plusieurs jours, les autres de deux mois, furent diluées dans la solution physiologique de Na Cl et mélangées au sérum actif, pour observer la réaction. Celle-ci fut positive par l'apparition d'un précipité très net. Un linge taché de sang humain a été lavé à l'eau, puis séché : on y distinguait très difficilement les traces des anciennes taches. Après avoir fait macérer ce linge dans la solution de Na Cl, le sérum de lapin donna avec le liquide de la macération un faible précipité ; le sang humain putréfié donna également des résultats positifs. Cependant des linges imprégnés de sang humain depuis 1893, traités dans les mêmes conditions, n'ont rien donné. Des ciseaux tachés avec du sang humain depuis deux mois et complètement rouillés ont été grattés, les débris lavés à l'eau salée et la solution

filtrée a donné un précipité en présence du sérum actif. Enfin quelques gouttes de sang furent déposées sur trois lames de verre et portées à l'étuve aux températures 75°, 100°, 125°. Les taches traitées par la solution de Na Cl, et puis par le sérum actif donnèrent la réaction caractéristique à l'exception de celle qui fut portée à la température de 125°.

De Nobele essaya de simplifier la technique de préparation des sérums en faisant absorber à des lapins, par la voie stomacale, du liquide d'ascite. Mais les résultats en furent aussi négatifs que ceux qui furent essayés dans le même sens par Tchistowitsch, Wolf et W. Myers.

Gianelli et Perrando employèrent le liquide d'hydrocèle pour l'immunisation des lapins. Le sérum de ces derniers donna des résultats positifs avec le lacto-sérum et le lait humains.

Ogier et Hercher injectaient tous les deux jours 10 cc. de sérum humain sous la peau du lapin. Après la sixième injection, les expériences faites avec le sérum de l'animal furent d'une concordance parfaite avec celles des autres savants. En plus ils essayèrent de conserver le sérum à 0° pendant trois semaines.

Malgré le reproche fait à la méthode d'être un peu longue pour obtenir le sérum précipitant, ils ne conseillent pas moins son emploi dans les expertises médico-légales.

Carlo Ferrai, dans une communication à l'Académie royale de médecine légale de Gènes, proposa la méthode d'Uhlenhut et Wassermann pour les expertises médico-légales en exposant en même temps ses propres travaux relatifs à la question. Pour lui, le procédé biologique de la diagnose du sang par les sérums précipitants paraît bien de nature à résoudre le problème, depuis si longtemps à l'étude, de la différenciation du sang humain

d'avec celui des animaux. Le point le plus intéressant de ses recherches, signalé pour la première fois, est celui de l'action de la chaleur sur le sang préparé pour la réaction. L'auteur fait remarquer que le sang humain exposé à une température variant entre 130° et 170° perd la propriété de donner la réaction précipitante, les taches de sang, après une heure à 130°, après vingt minutes à 140°, après dix minutes à 150°. Mais dans ces conditions, avant de perdre sa propriété précipitante, le sang perd tout d'abord la propriété de donner des cristaux d'hémine.

Les travaux de Ferrai ont été repris en France par Linossier et Lemoine. Les expérimentateurs ont étudié non seulement l'action que la chaleur peut exercer sur les sérums, mais encore l'effet des moyens chimiques sur ces derniers. Voici d'ailleurs leur compte rendu à la Société de Biologie en 1902:

« 1° Action de la température. — Le sérum précipitant » n'est pas trop sensible à l'action de la chaleur. Un sérum » actif vis-à-vis du sérum de cheval à la dose de 3 °/₀ » fut exposé pendant 48 heures dans une étuve à 60°. Au » bout de ce temps, le liquide, décanté du coagulum qui » s'était formé, ne précipitait plus le sérum de cheval même » à la dose de 18 °/₀, mais le troublait toutefois dès la » dose de 10 °/₀; dilué au cinquième de l'eau physiologi- » que, le même sérum actif résiste encore davantage. » Maintenu 48 heures à 60°, il troublait encore le sérum » de cheval à la dose de 8 °/₀ comme avant d'être chauffé » et le précipitait au-dessus de 5 °/₀ bien que médiocre- » ment. Après quatre jours d'action ininterrompue de la » chaleur il précipitait encore un peu au-dessus de 10 °/₀. » Une température de 65° détruit par contre complète- » ment la précipitine en 24 heures.

» Le sérum précipitable (de cheval) dilué au dixième

» dans l'eau physiologique, maintenu quatre jours entiers » à l'étuve à 60°, conserve à peu près intacte la propriété » d'être troublé par la précipitine. Après comme avant le » chauffage, cette propriété était encore constatable sur » des solutions à 1/5.000. Après 24 heures de séjour à » 65°, le sérum dilué perdit au contraire entièrement la » propriété d'être précipité. L'ébullition d'une solution » de sérum assez diluée pour n'être pas précipitée par la » chaleur doit être prolongée plusieurs minutes pour que » disparaisse entièrement la propriété d'être troublée par » la précipitine.

» La réaction peut se produire dès 0°, et elle se produit » encore nettement à 58°. Il ne semble pas y avoir de gran- » des différences dans l'abondance du précipité suivant la » température à laquelle on opère. Toutefois, à 0° le dépôt » se fait mal. Vers 35°, la réaction semble un peu plus » rapide. Cette différence relative à la température con- » tribue à distinguer l'action des précipitines des actions » diastasiques.

» 2° *Acides et alcalis*. — Une proportion de 0,45 p. 1000 » d'acide sulfurique gêne la réaction, elle est réduite au » minimum par 2,45 p. 1000 et tout à fait entravé par 4,5 » p. 1000. Le carbonate de soude, à la dose de 0,66 p. 1000 » est sans action fâcheuse : au-dessus de cette dose il » entrave de plus en plus la réaction à mesure qu'on élève » la proportion. Toutefois, on observe encore des préci- » pités nets en présence de 5,3 p. 1000, et la dose de 10,6 p. » 1000 n'empêche pas d'une manière absolue la réaction. En » somme, la précipitation se produit pour le mieux dans » un milieu neutre ou légèrement alcalin. L'excès d'acide » lui est plus nuisible que l'excès d'alcali.

» 3° *Sels*. — Si l'on dilue du sérum au vingtième et si » on ajoute au mélange des proportions croissantes de » NaCl, on constate que ce sel retarde la précipitation » par le sérum actif correspondant même à la dose de » 1 p.100. A partir de 5 p. 100, le précipité n'est pas en- » core formé après 24 heures. Toutefois nous diluons » toujours le sérum avec de l'eau physiologique de peur » de provoquer avec l'eau distillée une séparation de glo- » buline. Nous avons constaté que la réaction précipi- » tante peut s'exercer en présence de petites quantités » de sulfate d'ammoniaque, de sulfate de magnésie, de » fluorure de sodium à 1 p. 100. L'alcool à la dose de » quatre gouttes pour vingt gouttes de liquide, le chloro- » forme à saturation n'empêchent pas la précipitation de » se produire. »

A propos de l'utilisation des divers liquides organiques en vue d'obtenir la formation des sérums précipitants, nous croyons intéressant de citer une tentative faite par Farnum, en Amérique.

Ce dernier pratiqua une série d'expériences ayant pour but d'utiliser la séro-réaction pour l'examen médico-légal des taches de sperme. Il injecta dans le péritoine des lapins soit du sperme, soit une émulsion testiculaire d'homme, chien ou taureau, dilués dans le sérum physiologique de 4 à 25 fois leur volume. Les animaux reçurent cinq à huit injections à des intervalles de deux à six jours. Le sérum sanguin des animaux en expérience fut examiné au point de vue de son pouvoir précipitant à l'égard du sperme. Ainsi, le sérum des lapins traités par du liquide testiculaire du chien précipitait le filtratum de cette même substance, tout en restant sans effet sur le sperme humain et sur l'émulsion testiculaire du taureau. Par contre, le sérum des lapins non injectés ne provoqua

aucun précipité dans une émulsion de testicules de chien. Le sérum des animaux injectés avec le liquide testiculaire de taureau détermina un précipité dans ce même liquide, le sperme humain et les émulsions de chien et de bouc ne furent point influencées. Enfin le sérum des lapins préparés avec les injections du sperme humain, donna une réaction très nette non seulement avec les émulsions fraîches ou anciennes du sperme humain, mais encore avec le produit de filtration du sperme desséché et conservé pendant 34 jours sur du papier à filtre ou sur des vêtements. Le même sérum, par contre, fut inactif vis-à-vis des liquides testiculaires de chien, de taureau et de bouc.

On comprend la grande portée pratique que peuvent avoir ces données dans les expertises médico-légales.

Arthus et Vansterberghe ont proposé de faire aux animaux des injections de sérum d'ascite recueilli aseptiquement.

Ils ont préféré au lapin un chien de 10 kilos, auquel ils ont injecté chaque fois 20 centimètres cubes du liquide en question. Une fois l'animal sacrifié, son sérum a précipité le liquide d'ascite même en solution diluée de 2 à 100 et même 500 volumes d'eau salée à 1 p. 100. Il a également donné un précipité avec l'urine humaine albumineuse, mais nullement avec le sérum de cheval ou de lapin.

La réaction a été encore positive au bout de deux mois après addition de fluorure de sodium à 3 p. 100. Le sérum de lapin préparé avec du sang de bœuf donna la réaction au bout de trois mois, après avoir été conservé avec le NaFL à 1 p. 100.

Les auteurs recommandent leur méthode pour les avantages suivants : 1° parce que le liquide ascitique est plus facile à recueillir et à conserver que le sérum; 2° le chien

qui sert pour les expériences peut fournir des grandes quantités de sérum sans être sacrifié ; 3° le sérum peut être conservé dans du fluorure de sodium à 1 p. 100 sans que des propriétés précipitantes en souffrent.

Nous avons vu jusqu'ici que tous les auteurs, à l'exception de Wassermann et Schutze qui ont opéré avec le sang humain et celui du singe, ont constaté que la précipitation était spécifique, c'est-à-dire que le sérum d'un animal A, qui a reçu des injections de sérum d'un animal B, précipite, à l'exclusion de tous les autres sérums, celui du même animal B dont il a été vacciné. Ainsi, la détermination de l'origine du sang devenait d'une précision remarquable. Mais malheureusement, comme toujours, les faits ne doivent pas être généralisés sur une aussi vaste échelle, et, s'il y a des règles, il y a encore des exceptions.

Nous venons de dire que Wassermann et Schutze ont observé une réaction positive avec le sang d'espèces voisines : homme et singe ; Bordet avait déjà signalé des faits comparables : le sérum actif du lapin précipitant le sérum de poule a encore une certaine action sur celui du pigeon.

En présence de ces faits, Linossier et Lemoine ont recherché jusqu'à quel point la spécificité de la réaction était absolue. Ils ont conclu, conformément à leurs expériences, que les sérums précipitants ne sont pas spécifiques, mais que la sensibilité seule de la réaction varie, les précipités obtenus étant en général d'autant moins volumineux que l'animal dont on étudie le sérum est plus éloigné dans l'échelle des êtres vivants de celui dont le sang a servi aux injections provocatrices du développement de la précipitine.

Le point qui nous occupe étant d'une importance capi-

tale, nous croyons utile d'y insister un peu plus en énumérant les intéressantes expériences de ces derniers auteurs.

En mélangeant un volume de sérum emprunté à des animaux différents à dix volumes au moins du même sérum précipitant, ils ont constaté que :

1° Le sérum d'un lapin injecté avec du sérum humain précipite les sérums d'homme, bœuf, cheval, chien, mouton, porc, cobaye et poulet.

2° Le sérum d'un lapin injecté avec du sérum de génisse précipite le sérum de génisse, cheval, mouton, homme, porc, chien, poulet.

Toutes ces précipitations sont très nettes avec les sérums d'homme, bœuf, cheval, chien, mouton, porc : la réaction est faible avec le sérum de cobaye, le précipité est minime dans le sérum de poulet. Aucun des sérums actifs ne précipitait le sérum de lapin.

Linossier et Lemoine prétendent que s'il n'y a pas une spécificité dans le sens absolu du mot, il n'en existe pas moins une, celle-ci relative, qui se traduit de deux manières : 1° En ce que les quantités de précipitine minima nécessaires pour provoquer un trouble dans un sérum donné sont beaucoup moindres quand ce sérum est le sérum correspondant ; 2° en ce que le précipité provoqué par une précipitine dans le sérum correspondant est incomparablement plus volumineux que dans un autre sérum. Aussi peut-on déceler le premier dans une solution assez diluée pour qu'un autre sérum, à la même dilution, ne soit pas troublé. Ainsi, ils ont vu que le sérum d'un lapin injecté avec du sang de génisse troublait le sérum de celle-ci à 1 pour 5.000 ; le sérum de cheval dilué à 1 pour 300 ; le sérum humain dilué à 1 pour 50.

Voici, d'un autre côté, les conclusions qu'en font res-

sortir les auteurs en mettant en évidence le double intérêt de ces données :

« 1° Ces expériences, disent-ils, sont de nature à mo-
» difier les hypothèses théoriques que l'on peut faire sur
» la signification des précipitines. La notion de spécifi-
» cité absolue des précipitines admise par les expérimen-
» tateurs antérieurs, tendait à faire admettre dans les
» molécules albuminoïdes ou du moins dans certaines
» molécules albuminoïdes animales, l'existence d'un grou-
» pement spécial caractéristique de l'espèce, exclusif à
» chaque espèce et décelable par la précipitine correspon-
» dante. Les faits que nous apportons, loin de témoigner
» d'une différence aussi absolue entre les matières albu-
» minoïdes des animaux d'espèce différente, nous mon-
» trent la constitution de ces matières se transformant
» pour ainsi dire progressivement d'une espèce à l'autre
» et attirent l'attention sur la continuité de cette trans-
» formation et sur les liens qui en dépit des caractères
» différentiels frappants, maintiennent entre les plasmas
» des animaux d'espèce différente des caractères de simi-
» litude, les propriétés qui présentent au maximum les
» sérums d'une espèce se retrouvant à l'état atténué dans
» les sérums d'espèces assez éloignées.

» 2° Ces faits ont aussi, au point de vue médico-légal,
» une importance sur laquelle il est superflu d'insister,
» car leur ignorance pourrait être la cause de graves er-
» reurs. Si jusqu'ici la réaction des sérums précipitants
» a paru spécifique, c'est parce que dans les conditions
» habituelles d'une expertise portant sur les taches de
» sang, le chimiste n'ayant à sa disposition que des tra-
» ces de substances a, par le fait même, toujours recher-
» ché la réaction sur des solutions diluées et, dans ces
» conditions, seul le sérum correspondant à la précipi-

» tine est troublé. Il semble, d'ailleurs, qu'une partie au » moins des expérimentateurs n'a disposé que des préci- » pitines peu actives, ce qui est une condition favorable à » la non-précipitation des sérums autres que le sérum » correspondant à la précipitine. Mais il suffirait qu'un » expert eût, par hasard, à sa disposition une solution » assez concentrée du sérum à caractériser et un sérum » précipitant très actif pour qu'il puisse obtenir un pré- » cipité dans du sang de bœuf avec de la précipitine » humaine ou réciproquement. Imbu de la notion actuel- » lement admise de la spécificité des précipitines, il pour- » rait être amené à une conclusion inexacte dont les » conséquences en pareille matière pourraient être très » graves. Nos recherches, ne signalant qu'une cause » d'erreur parfaitement évitable des sérums précipitants » en médecine légale, ne sont pas pour jeter un discrédit » sur un procédé fort intéressant.

» Elles imposent seulement l'obligation, pour l'expert » qui veut déterminer l'origine d'une tache de sang, de » dissoudre celle-ci dans une quantité de liquide telle que » seul le sérum correspondant à la précipitine puisse » être troublé par elle. Une solution de sérum au milliè- » me, par exemple, nous a toujours paru troublée par la » précipitine correspondante et jamais par une autre pré- » cipitine. »

Nous ne pouvons pas insister davantage sur l'importante question de la non spécificité absolue du moment que nous nous proposons d'y revenir plus tard à propos de la technique expérimentale, mais nous croyons pourtant utile d'annoncer dès maintenant que nos expériences ont été en parfait accord avec celles faites par Linossier et Lemoine, en ce sens que nous avons obtenu des précipités dans plusieurs tubes contenant des sérums divers

alors que nous ne devions en obtenir que dans un seul avec cette restriction pourtant très instructive et d'une importance capitale, c'est que le premier précipité en date (deux heures après l'expérience) fit son apparition dans le tube contenant le sang de l'animal dont le sérum servit à l'immunisation.

Nuttal expérimenta le sang de quarante-six espèces de singe avec le sérum d'animaux préparés avec du sang humain. Il constate ainsi que le sang des Simidæ donne un précipité aussi abondant que celui du sang humain. Le précipité est moins abondant avec le sang des Cercopithèques ; il est faible avec le sang des Hapalidæ et des Cebidæ ; il est presque négatif avec le sang de trois espèces de Lémuriens.

Le sérum d'animaux injectés avec le sang de cheval n'a donné la réaction qu'avec le sang de cheval et d'âne.

Le sérum d'animaux préparés avec le sang de bœuf ne s'est montré sensible qu'envers le sang des ruminants d'espèces voisines. L'auteur, après avoir expérimenté avec les sérums d'un grand nombre d'animaux, conclut qu'il existe une réaction spéciale qu'il appela réaction mammifère. Il n'a jamais vu se produire le moindre trouble dans le sang des oiseaux, des reptiles, des bactériens ou des crustacés.

Butza, de Bucarest, a employé le sérum pleurétique humain en injections intra-péritonéales au lapin.

Il fit cinq à six injections de liquide pleurétique centrifugé de 10 à 20 cc. chacune et dans l'intervalle de tous les deux jours. L'animal fut saigné à blanc. Les expériences ont été faites sur du sang humain et les treize échantillons suivants : sang de bœuf, porc, chien, lapin, poisson, cobaye, chat, poule, pigeon, oie, canard, agneau, dinde disposés depuis un mois en taches sur des tissus de

coton. Chaque tache fut délayée dans un tube à essai contenant 6 cc. de la solution de Na Cl à 7 pour 1000. Ce liquide filtré sur du papier filtre stérilisé fut additionné de 1|2 cc. de sérum de lapin injecté avec le liquide pleurétique. Au bout de dix à quinze minutes, un trouble nuageux apparut seulement dans le tube contenant l'eau de lavage du sang humain; ce trouble se transforma en précipité caractéristique au bout d'une heure dans l'étuve à 37 degrés. L'auteur n'a rien remarqué dans les autres tubes dans le même laps de temps et dans les mêmes conditions.

Stoenesco ayant immunisé des lapins avec du sang humain provenant du cordon ombilical des nouveau-nés, essaya en novembre 1901, la valeur de la réaction de la manière suivante :

1° Du papier buvard taché de sang humain en juin 1901 ;

2° Des morceaux de toile, de mousseline et de shirting tachés de sang en juillet 1901 ;

3° Du bois d'allumettes imprégné avec le même sang en août 1901 et placé un certain temps dans une boîte à charbon ;

4° Des branches d'arbre plongées dans du sang en août 1901 et exposées à l'air pendant l'hiver ;

5° Du bois de sapin et chêne souillés en août 1901 ;

6° Un couteau taché deux jours avant les expériences ;

7° Du sang mélangé à de la terre en mai 1901 et conservé dans la cave;

8° Un revolver et un rasoir tachés de sang et provenant d'un crime en mai 1900 ;

9° Une brique blanchie à la chaux tachée en septembre 1901 et laissée à l'air pendant l'hiver ;

10° Quelques chiffons tachés de sang d'ours et de chameau en avril 1901, au sang de chien en mai 1901.

Une partie de ces objets, d'une étendue de 1 cent. carré, fut macérée dans une solution de NaCl à 6 0/00. Pour les anciennes taches qui se dissolvent difficilement dans le NaCl, il a essayé, avec succès, la macération dans une solution de soude à 1 0/0. Le sérum de lapin fut dilué au 1/10; les solutions, régulièrement filtrées pour qu'elles fussent limpides, furent placées dans des petits tubes bouchés de 10 à 12 millimètres de long. L'auteur a mélangé 2 à 3 cc. de solution avec du sérum réactif. La réaction fut positive avec les taches de sang humain, elle se manifesta par un trouble et puis un précipité caractéristique dans l'espace de dix minutes à une heure. Seuls les tubes contenant la macération du sang des autres mammifères n'ont montré qu'un léger trouble dans les vingt-quatre heures.

Les conclusions que Stoenesco tira de ses expériences sont les suivantes :

1° Les sérums spécifiques peuvent être utilement employés en médecine légale pour le diagnostic des taches de sang ;

2° Il est important de ne pas se borner à une seule expérience, et il convient de faire chaque fois des essais comparatifs avec des solutions du sang d'homme et des divers animaux ;

3° Il convient de ne formuler des conclusions qu'avec une certaine réserve. Les précipités apparaissent d'autant plus vite et sont d'autant plus abondants que les taches sont plus récentes ;

4° Si le sang ne peut se dissoudre dans la solution du NaCl, on doit employer une solution de soude à 1 0/0.

Nolf reprit les expériences précédentes, et, serrant la

question de plus près, essaya de déterminer la substance précipitable. Il démontra d'une façon irréfutable que le pouvoir précipitant était dû au sérum ou au plasma seuls, et que les globules rouges n'y jouaient absolument aucun rôle. Ce résultat acquis, il poussa l'analyse plus loin.

Pour cela, en se basant sur ce que le sérum est une solution des diverses albuminoïdes plus ou moins connues, et que la chimie peut en extraire un groupe facile à précipiter, la globuline, et un autre qui reste solide, l'albumine, appelée encore sérine, il se demanda si le pouvoir précipitant est dû à l'un ou à l'autre de ces groupes d'albuminoïdes ou à tous les deux à la fois. Pour résoudre la question, Nolf s'adressa au sérum de cheval.

Il en sépara la globuline par saturation au sulfate de magnésie à 30°; il purifia le précipité de globuline par une dissolution dans l'eau distillée suivie de reprécipitation au moyen du même sel. L'albumine fut obtenue en ajoutant 1 0/0 d'acide acétique au filtrat après refroidissement. Après une dyalise de huit jours dans l'eau chloroformée, les solutions de globuline et d'albumine, débarrassées de l'excès de sel et stérilisées par le chauffage à 56°, furent injectées à des lapins, chacun recevant cinq injections à huit jours d'intervalle en raison de 5 cc. par injection.

L'auteur constata, dans ces conditions, que seul le sérum des lapins injectés de la solution de globuline troublait et précipitait le sérum de cheval. Il troublait également les solutions de globuline et laissait limpides les solutions d'albumine. Le sérum des lapins ayant reçu en injections la solution d'albumine, ne troublait ni le sérum de cheval, ni les solutions de globuline, ni celles d'albumine. Nolf en concluait « que la réaction précipitante est la réponse de l'organisme à l'injection d'une

catégorie bien déterminée de substances albuminoïdes du sang, que c'est la globuline seule qui la produit à l'exclusion de « l'albumine »

D'un autre côté, le même auteur démontra que le stroma de l'enveloppe globulaire produit l'agglutination et la précipitation, tandis que l'hémoglobine en injection ne donne pas de résultat, bien que les substances albuminoïdes employées soient deux fois plus considérables que pour les stromas.

La peptone injectée ne lui a jamais fourni de substance précipitante chez les animaux, contrairement à ce que Myers observa.

Camus, par introduction de fibrine de chien dans le péritoine du lapin, a obtenu un sérum qui précipitait non seulement les solutions de fibrine de chien, mais encore le sérum et la fibrine-ferment du même animal. Réciproquement, la précipitine obtenue sous l'influence d'injections au lapin de sérum de chien, précipitait les solutions de fibrine du même animal.

Leblanc reprit le procédé imaginé par Nolf. Il injecta à des lapins des solutions de globuline et des solutions d'albumine provenant du sang de vache. Il précipitait les globulines par demi-saturation au sulfate ammonique, la sérine, par saturation au moyen du même sel; mais au lieu d'injecter toutes les globulines, comme le faisait Nolf, il injectait seulement les pseudo-globulines, l'euglobuline étant précipitée par une dyalise prolongée. Les lapins recevaient environ huit injections. Il constata, comme Nolf, que le sérum des lapins ayant reçu des injections de globuline de vache, provoquait dans le sérum de celle-ci un trouble manifeste après quelques minutes de contact et un dépôt notable après quelques heures. Mais le sérum des lapins injectés avec de l'albumine pro-

duisait, à l'inverse de ce que Nolf, après un petit nombre d'injections, il est vrai, avait constaté, un trouble et un précipité dans le sérum de vache, lesquels étaient même plus importants que ceux que donnait le sérum des lapins préparés avec la globuline. La spécificité de ces sérums précipitants quant à l'espèce animale, était absolue. L'immun-sérum ne donnait aucun trouble, ni avec le sérum de cheval, ni avec ceux de mouton, de cochon, etc. La spécificité n'était pas moins nette vis-à-vis des différentes protéïdes du sérum de vache : le sérum du lapin, injecté de pseudo-globuline, laissait parfaitement limpides les solutions d'albumine, tandis qu'il troublait énergiquement les solutions de globuline. Le sérum des lapins immunisés avec l'albumine laissait limpides les solutions de pseudo-globuline pour troubler les solutions d'albumine.

On conçoit par là, que si ces résultats sont exacts, on posséderait un procédé facile et précis pour le diagnostic des albuminoïdes en solution.

Ainsi, Lechainche et Vallée tentèrent d'appliquer le procédé à la clinique pour le diagnostic de la nature chimique des albuminoïdes de l'urine dans les néphrites. Pour cela, ils firent des injections intraveineuses aux lapins avec une urine contenant 1 à 2 gr. de sérine par litre. Les injections furent continuées pendant trois mois, les animaux ayant reçu 150 à 200 cc. d'urine. Quinze jours après la dernière injection, ils obtinrent un sérum actif qui donnait un précipité avec la sérine des urines albumineuses, tandis que l'urine normale ou l'urine contenant de la globuline restaient transparentes.

Linossier et Lemoine, de leur côté, reprirent l'expérience fondamentale de Nolf, consistant à injecter aux animaux séparément les albuminoïdes du sérum. Ils pré-

cipitèrent la globuline de 5 p. de sérum de cheval très légèrement acidifié par l'acide acétique en y ajoutant 6 p. d'une solution de sulfate ammonique. Le liquide filtré contenait la sérine. Après avoir fait des injections répétées aux lapins, ils constatèrent que le sérum des lapins ayant reçu de la sérine, acquiert le pouvoir précipitant mais à un degré bien moindre que le sérum des lapins ayant reçu des injections de globuline. L'action de ces sérums n'est pas spécifique : tous deux précipitant la globuline, même le sérum obtenu au moyen des injections de sérine, précipite plus nettement la globuline que la sérine.

Michaélis, en injectant de la globuline seule, obtint une précipitine n'agissant que sur la globuline. En injectant de l'albumine, il obtint une précipitine agissant aussi bien sur la globuline que sur la sérine.

Rostoski sépare la globuline de l'albumine dans le sérum de cheval par demi-saturation au sulfate ammonique.

Il ne constate non plus aucune spécificité, quant à la nature chimique des albuminoïdes. Les lapins injectés de globuline ou de sérine donnent un sérum qui précipite de la même façon les deux albuminoïdes du sérum de cheval.

Umber applique le même procédé aux albuminoïdes du blanc d'œuf. Il constate que les lapins injectés soit de globuline, soit de l'albumine de l'œuf, donnent un sérum qui précipite les solutions de globuline mais qui ne trouble nullement les solutions d'ovalbumine.

Falloïse s'est demandé si les différences dans les résultats obtenus par les divers expérimentateurs n'étaient pas dues, soit à l'origine des sérums employés (cheval ou vache), soit aux procédés chimiques utilisés pour la sépa-

ration des globulines et des albumines, soit encore au nombre d'injections pratiquées aux animaux, ou bien à la façon dont chacun observe la réaction. Ainsi, il s'adressa au sérum de cheval et au sérum de bœuf. Dans chacun d'eux, il sépara les albumines et les globulines au moyen des procédés employés par Nolf et par Leblanc, les deux auteurs dont les résultats paraissaient sinon les plus contradictoires mais au moins bien différents.

Il soumit tous les précipités ainsi obtenus à la dialyse dans l'eau chloroformée pendant huit jours, additionnés de 1 0/0 de NaCl et conservés sur une couche de chloroforme. Il détermina leur teneur en albuminoïdes au polarimètre ; 5 à 10 cc. des solutions obtenues furent injectées à des lapins pendant deux mois à sept jours d'intervalle.

Les résultats furent toujours comparables quelle que fût l'origine du sérum ou le mode de séparation des albuminoïdes : le sérum des lapins injectés de globuline de cheval, ajouté soit à des solutions de globuline de cheval, soit à du sérum de cheval, y détermina un trouble intense qui bientôt se déposa en précipité abondant. Ajouté à des solutions d'albumine de cheval, il y provoqua un trouble à peine appréciable et un dépôt très faible. Avec du sérum de bœuf ou avec des solutions de globuline de bœuf, il produisit après 24 heures un dépôt très faible ; ajouté à de l'albumine de bœuf, il ne donna absolument rien.

Mêmes expériences et mêmes résultats pour le sérum des lapins préparés avec la globuline et l'albumine du bœuf.

Le pouvoir précipitant du sérum des lapins ayant reçu les injections de globuline, est non seulement beaucoup plus intense que celui des lapins immunisés avec la sérine, mais il se produit encore, d'après Falloïse, après un moins

grand nombre d'injections. L'auteur termine son intéressant travail par les conclusions suivantes :

« Ou bien l'albumine injectée aux lapins donne à leur » sérum un pouvoir précipitant faible, demandant pour » se produire un grand nombre d'injections, tandis que » les injections de globuline leur confèrent un pouvoir » précipitant énergique et rapide, ou bien, ce qui est » plus vraisemblable, les procédés classiques employés » pour la séparation des globulines et des albumines ne » sont pas parfaits et les solutions d'albumine que l'on » injecte contiennent des traces de globuline, et ce sont » ces dernières qui, après des injections nombreuses, » finissent par conférer au sérum du lapin un pouvoir » précipitant. C'est en revenir à la conclusion de Nolf, » qui attribue à la globuline seule la propriété de faire » naître le pouvoir précipitant. Dans tous les cas, il résulte » des expériences précédentes que la réaction précipi- » tante ne fournit pas un procédé permettant de diffé- » rencier sûrement, dans les solutions, les globulines des » albumines. Il en résulte, comme l'ont constaté Linos- » sier et Lemoine, que la spécificité quant à l'espèce ani- » male n'est pas absolue, puisque le sérum des lapins » injectés de globuline de cheval, précipite bien que fai- » blement le sérum du sang de bœuf. »

Vansteenberghe, dans sa thèse inaugurale de 1901 sur les sérums anti albumineux, a étudié au moyen des sérums précipitants : *a)* les albuminoïdes du sang humain (Il a obtenu un précipité même après dilution à 1/30.000, tout en constatant la spécificité de la réaction) ; *b)* les albuminoïdes du lait ; *c)* les albuminoïdes de l'œuf ; *d)* les urines albumineuses.

Les injections de peptone lui ont fourni des résultats négatifs.

L'auteur termine son fort intéressant travail en émettant les conclusions suivantes :

1° Si l'on injecte à un animal des albuminoïdes empruntées à des animaux d'espèce différente, le sérum de l'animal ainsi préparé acquiert la propriété de précipiter en dehors de l'organisme les substances dont on s'est servi.

2° Cette réaction ne devient manifeste qu'après plusieurs injections ; elle paraît augmenter à mesure que les injections se répètent et que la quantité d'albumine augmente.

3° De plus, elle est spécifique : le sang d'un lapin préparé avec les albumines provenant d'un animal d'une espèce donnée, ne précipitera que ces albumines et non celles d'une espèce voisine.

4° La réaction se produit aussi bien quand on se sert, au lieu des liquides physiologiques comme le lait, le sérum, le blanc d'œuf, des matières albuminoïdes qui les composent. Dans tous les cas, c'est la globuline qui produit la propriété précipitante — l'albumine paraît sans action.

5° Les sels les plus divers n'influencent pas cette propriété, qui existe dans le sérum circulant, mais elle est détruite par le chauffage à 70° et paraît due à la présence dans le sang de l'animal immunisé d'une substance précipitable par l'alcool et active après redissolution.

Ceci nous amènera à parler de l'extraction et de la conservation du principe actif des sérums précipitants, ce que nous nous proposons de faire au chapitre II, et en second lieu à mentionner le travail de Corin de Liège, dont nous reproduisons la partie la plus essentielle, parce que c'est elle qui attira le plus notre attention au point de vue de sa grande portée pratique et de la facilité avec laquelle

dans l'avenir, tout médecin, aussi bien dans un laboratoire bien outillé que dans la clientèle privée, pourra appliquer avec succès la méthode dans les cas d'expertises médico-légales, concernant l'origine des taches de sang.

Corin ayant précipité par le sulfate de magnésie le sérum de chien immunisé par des injections de paraglobuline humaine, ayant ensuite purifié le précipité par redissolution dans l'eau, filtration et nouvelle précipitation, obtint une globuline qui, redissoute dans l'eau, présentait vis-à-vis d'une solution de tache de sang humain, des propriétés nettement précipitantes.

Pour la précipitation de la paraglobuline du sérum, l'auteur préfère employer le sulfate de magnésie au sulfate ammonique à saturation, pour la simple raison que ce dernier sel précipite non seulement la paraglobuline, mais encore l'albumine et qu'on ne saurait dans pareilles conditions laquelle des deux substances du sérum jouit au juste des propriétés précipitantes. Ainsi donc, pour la séparation de la globuline, nous dit Corin, « on sature le sérum » à 30 degrés par du sulfate de magnésie, on filtre, on » redissout le précipité dans une quantité d'eau aussi pe» tite que possible : on filtre cette solution et on la préci» pite de nouveau par le même procédé. Si l'on répète » cette opération trois fois, la quantité d'albumine qui a » pu rester incorporée à la paraglobuline est tellement » faible, qu'elle ne peut plus rentrer en ligne de compte » dans les propriétés précipitantes.

» La solution de la paraglobuline ainsi obtenue est, à » peu de chose près, aussi active que le précipité que » donne le sulfate ammonique. Elle a, de plus, l'avantage » de ne pas précipiter l'albumine ni la paraglobuline à « raison de sa teneur en sel. Le sulfate de magnésie ne » précipite pas, en effet, l'albumine et le fait que la para-

» globuline a pu se dissoudre, montre que la solution est » trop pauvre en sulfate magnésique, pour amener, de » par ce sel, une précipitation de paraglobuline dans » la sérosité examinée. On peut donc utiliser la solution » de paraglobuline active après l'avoir filtrée, sans crainte » de la voir produire des précipitations par la saturation » de sel. Le liquide que l'on obtient dans ces conditions, » est un liquide opalescent, mais très suffisamment trans- » parent, surtout quand on l'a mélangé à la sérosité sus- » pecte, pour que l'on puisse y voir apparaître le précipité » caractéristique Ce n'est plus alors une légère opales- » cence que l'on observe, c'est un trouble complet, opa- » que que l'on ne peut confondre avec l'opalescence.

» Jusqu'à présent, j'ai toujours utilisé parties égales » de ma solution de paraglobuline et de la sérosité sus- » pecte. Quant à la quantité absolue de paraglobuline qui » est nécessaire pour amener la réaction, je ne l'ai pas » déterminée. Je me contente d'un liquide qui présente » une légère teinte opalescente. »

L'auteur insiste encore sur la plus grande concentration possible de l'extrait aqueux de la tache de sang. Il conseille d'utiliser le moins d'eau possible pour la préparation de cet extrait et de laisser en plus l'eau en contact avec la tache le plus longtemps possible. Au besoin, si la nature de la tache s'y prête, on rendra ce contact plus intime en broyant la tache au mortier. La concentration de l'extrait aqueux lui paraît nécessaire, parce que la substance à précipiter est de la paraglobuline qui est moins soluble dans l'eau que l'albumine. Il estime encore qu'il ne faut pas croire que la macération d'une tache ne donnera pas de précipité, lorsqu'elle n'est pas colorée par l'hématine.

Celle-ci, en effet, altérée par le séjour à l'air et la lu-

mière, peut ne plus se dissoudre, alors que la paraglobuline du sérum se dissout encore très suffisamment. Par conséquent, dans la pratique, il peut se présenter des cas dans lesquels les réactions spectroscopiques ou chimiques du sang peuvent faire défaut, tandis que le séro-diagnostic permettra d'affirmer que l'on a affaire à du sang.

Corin émet les conclusions suivantes :

« On peut obtenir un sérum précipitant le sang humain » en injectant à un animal de la paraglobuline humaine » par précipitation au sulfate de magnésie à saturation » à 30 degrés, du sang, des exsudats et des transsudats » humains. La substance active des sérums précipitants » est la paraglobuline que l'on peut isoler et conserver » probablement indéfiniment à l'état sec, pulvérulent. Le » sérum desséché purement et simplement paraît aussi » conserver ses propriétés précipitantes. »

Avant de terminer le chapitre de l'historique, nous pensons, et à juste raison, nécessaire de mentionner l'excellent travail de A. Leblanc, de Bordeaux, datant de 1903. L'auteur, après avoir exposé nos connaissances sur la matière d'une manière très précise et relaté ses intéressantes expériences, émet les conclusions suivantes :

1° La réaction Bordet-Uhlenhut doit prendre place en médecine légale dans la recherche et la diagnose du sang ;

2° Les résultats ne seront considérés comme positifs que si la réaction s'est effectuée dans l'espace d'une heure au maximum, à la température de 32 à 37 degrés ;

3° Les sérums précipitants seront toujours de préparation récente et employés en médecine légale à l'exclusion des extraits de ces sérums ;

4° Jusqu'à ce que des études complémentaires aient bien démontré que les antiseptiques n'ont aucune action

sur les sérums précipitants, on évitera d'additionner ceux-ci de substances chimiques quelconques.

L'auteur, en souhaitant que de nombreuses recherches approfondissent l'importante méthode, termine ainsi :

« Nous conclurons, avec M. Barthe, que la présence du » sang étant démontrée par la production des cristaux » d'hémine et au besoin par l'examen spectroscopique, » la réaction Bordet-Uhlenhut sera le principal élément » d'investigation pouvant permettre à un expert de se » prononcer sur l'origine probable de ce sang. Il demeure » entendu qu'elle seule ne suffira pas à affirmer la présence » du sang et encore moins d'affirmer l'origine de ce sang. » Elle prend place avant l'examen microscopique des » hématies et surtout avant leur mensuration. Entre les » mains d'un expert prudent et habile, elle peut faciliter » le diagnostic du sang humain. »

CHAPITRE II

TECHNIQUE OPÉRATOIRE

Nous venons de voir dans la première partie de ce travail que les procédés d'expérimentation sont variables suivant les auteurs. Les tentatives ne manquent pas et le dernier mot n'est pas encore dit. Sans avoir la prétention de préconiser une méthode précise et irréprochable, nous nous proposons d'une part de mettre en relief les points les plus importants pour la préparation des sérums précipitants, et d'autre part d'indiquer la pratique qui nous a paru la meilleure d'après les recherches que nous avons entreprises au laboratoire de médecine légale sous la direction de notre maître M. le professeur Sarda.

Pour chaque question nous traiterons la technique à suivre, tout en mentionnant les essais qui ont été tentés par les différents expérimentateurs.

1° *Choix de l'animal à injecter.* — La plus grande partie des expériences, et les nôtres en particulier, ont été pratiquées sur le lapin qui résiste bien à l'infection, est très maniable et s'immunise avec un nombre d'injections relativement restreint étant donné son poids habituel de 2 k. à 2 k. 500. A. Leblanc préfère les lapins gris aux noirs ou

blancs, qui lui paraissent d'une constitution plus délicate. En ce qui nous concerne, nous n'avons observé aucune différence en prenant les précautions antiseptiques usuelles. On a reproché à l'animal de ne donner que de petites quantités de sérum. Nous pensons pourtant qu'avec 50 cc. de sérum que l'on obtient aisément, on en a assez pour la réaction si le sérum est suffisamment actif. Arthus et Corin ont employé le chien à cause de la plus grande quantité de sérum que l'on en retire sans le sacrifier. Nous l'avons expérimenté sans succès, l'animal exigeant pour son immunisation de trop nombreuses injections : en plus, il nous paraît moins maniable et d'un entretien plus coûteux que le lapin.

Des tentatives semblables ont été faites sur les agneaux qui présentent les mêmes inconvénients que les chiens.

2° *Liquides à injecter.* — Les expériences nous montrent que le liquide albuminoïde le plus actif pour la préparation de l'animal est le sérum humain. Mais on comprend combien il est malaisé de s'en procurer à volonté aujourd'hui où l'on ne saigne plus à outrance.

Pour nos expériences nous nous sommes servi surtout de sérum humain. Le sang, recueilli dans un flacon stérilisé, fut laissé dans le laboratoire pendant 24-48 h. à la température de 12° jusqu'à séparation du sérum. Au bout de ce temps nous l'avons réparti dans de petits flacons stérilisés et obturés par du coton hydrophile jusqu'à utilisation pour la pratique des injections.

A défaut de sérum on peut faire usage des liquides des exsudats humains : liquide pleurétique, ascitique, liquide d'hydrocèle. Mais dans ces cas nous considérons que les injections devront être plus nombreuses que quand on

emploie le sérum, à cause de la moindre teneur des sérosités en globuline, élément actif.

Ainsi que nous l'avons déjà vu, on a encore immunisé des animaux avec succès au moyen du lactosérum, de l'urine albumineuse, etc.

Avant de terminer cette question, nous tenons à mentionner les injections de globuline ou para-globuline faites par Nolf, Leblanc, Linossier et Lemoine, Falloïse, Corin et nous-même. La question a été suffisamment étudiée dans le chapitre précédent pour que nous n'y insistions pas davantage. Cependant il ne nous paraît pas inutile de dire qu'à la rigueur on peut se dispenser de ces injections ainsi que de la précipitation primitive de la globuline du sérum, pourvu que cette dernière opération porte sur le sérum de l'animal immunisé (voir conservation de la propriété précipitante).

3° *Les injections.* — Elles doivent être faites avec une séringue stérilisée de 5 à 10 cc. La voie qui nous a paru la plus commode est la voie sous-cutanée. On a proposé la voie intra-péritonéale ou la voie intra-veineuse. Le sérum des lapins injectés par la voie sous-cutanée s'est montré aussi actif que celui des mêmes animaux ayant reçu des injections intrapéritonéales. Pourquoi donc, dans la pratique, ne pas préférer une voie qui a tous les avantages des autres sans en avoir les inconvénients ? Le nombre des injections varie suivant les auteurs.

Uhlenhut pratiquait cinq injections de 10 cc. tous les six à huit jours.

Wassermann et Schütze cinq à six injections de 10 cc. à deux jours d'intervalle et saignait une semaine après. Linossier et Lemoine 10 cc. tous les six à huit jours et sacrifiaient l'animal après la cinquième injection. Pour

nos lapins, nous avons pratiqué avec succès deux séries de cinq injections de 5 cc. chacune : la première à une semaine d'intervalle et saignée la semaine suivante, et la seconde tous les trois jours et saignée le 22me jour. En plus, nous avons essayé le procédé de Wassermann et Schütze également avec succès.

A la suite de nos recherches, nous sommes porté à croire que le nombre d'injections doit être toujours en rapport avec le poids de l'animal en expérience. Si cinq injections de 5-10 cc. suffisent pour l'immunisation du lapin, il en faut beaucoup plus pour celle du chien.

4° *Le sérum réactif.* - L'animal ayant reçu le nombre d'injections nécessaire pour rendre son sang actif, on peut, en lui piquant l'oreille, retirer quelques cc. qui serviront à faire l'épreuve de la réaction. Celle-ci étant positive, après un jeûne de 24 h. on saigne l'animal en recueillant son sang dans un flacon stérilisé. On le laisse reposer pendant 24 48 h. jusqu'à séparation du sérum, qui doit être limpide et très peu coloré ; au besoin, on le soumet à la centrifugation, opération préférable à la filtration.

5° *La réaction.* — Dans la pratique des expertises pour reconnaître l'origine du sang, le médecin légiste aura presque toujours affaire à des taches de sang trouvées sur un linge ou d'autres objets. C'est par conséquent sur ce point que nous devons insister davantage. Mais malgré cela, nous ne devons pas oublier que dans certains cas, rares il est vrai, on peut avoir à diagnostiquer l'origine du sang frais non plus à l'état de taches plus ou moins desséchées mais à l'état liquide.

Dans ces conditions, en nous conformant aux travaux

déjà parus et en ayant comme guide les résultats de nos expériences sur la valeur négative de la spécificité absolue des sérums, nous pensons qu'il faut diluer suffisamment le sang de façon à obtenir une solution à peine teintée de rouge, car si l'on opère avec une quantité de sang plus grande qu'il ne le faudrait, on risquerait fort de tomber dans de graves erreurs, en obtenant des précipités avec des sangs autres que celui dont le sérum servit à immuniser l'animal. La précipitation avec le sang frais s'observe de 2 à 6 heures à la température ambiante (15-20°).

Pour l'examen des taches, on doit opérer de la manière suivante : si les objets maculés, en présence desquels on se trouve, sont durs, on les gratte jusqu'à enlèvement complet de la tache dont les détritus sont reçus dans un verre de montre ; si, par contre, les objets sont mous, comme les étoffes, on en découpe une rondelle d'un centimètre carré à peu près que l'on fait macérer dans un verre de montre contenant 2 à 3 cc. de la solution physiologique de NaCl à 7 p. 1000. La macération doit être prolongée d'un quart d'heure à 1 heure, suivant l'état ancien de la tache. Ceci fait, on peut centrifuger le liquide avant de le mettre en contact avec le sérum réactif. Si la tache ne se dissout pas facilement, il vaut mieux employer, à la place du NaCl à 7 p. 1000, une solution de soude à 1 p. 100. La réaction doit être faite dans de petits tubes coniques de 8 à 10 centimètres de long sur 4 à 6 millimètres de diamètre. Il est bon d'en avoir plus d'un pour faire plusieurs essais comparatifs en même temps avec le sang de *différentes espèces*. Dans chacun des tubes on met 2 à 3 cc. du sérum réactif ou de la solution de para-globuline humaine, si l'on opère avec cette dernière, et qu'on mélange avec les 2 à 3 cc. de macération des taches de sang des différentes espèces en expériences. Dans ces cir-

constances, aucun trouble ou précipité ne doit se former d'emblée dans les mélanges. Pour observer le précipité qui se forme dans le tube contenant le sang dont le sérum servit à immuniser l'animal, ou bien il faut attendre quelques heures (24 au maximum), ou il faut porter les tubes à l'étuve à 37° ou au bain-marie de 35 à 38°. Ainsi, au bout de dix à quinze minutes, on voit apparaître dans le tube contenant la macération de la tache humaine (le sérum étant réactif vis-à-vis du sang humain) de petits flocons isolés dans la masse du liquide formant un trouble qui bientôt ne tardera pas à se ramasser au fond du tube en précipité plus ou moins volumineux, suivant l'activité du sérum réactif. Si on procède de cette façon, aucun trouble ne doit se manifester dans les autres tubes ; ainsi donc on aura une réaction qu'on a appelée spécifique, sans pourtant que cette spécificité soit absolue. Le même phénomène doit être observé si, à la place de la macération de la tache suspecte, on emploie 2 à 3 cc. de sang frais en solution à peine teintée de rouge.

6° *La réaction est-elle spécifique?* — Ainsi que nous l'avons vu dans l'historique, les premiers expérimentateurs ont eu une tendance à croire que la réaction des sérums précipitants était spécifique, c'est-à-dire que si un lapin recevait une série d'injections de sérum humain, son sérum aurait la propriété de donner un précipité rien qu'en présence du sang ou du sérum humains, le sang des autres mammifères restant absolument inactif à son égard. Si la chose était exacte, toute discussion postérieure serait déplacée et aucune difficulté ne se présenterait dans la pratique de la réaction. Mais, malheureusement, le fait n'est point aussi simple qu'on l'a cru au premier abord. En effet, on a vu par les expériences de Wassermann et

Schütze que le sérum du lapin immunisé avec du sang humain, tout en précipitant le sang humain, donnait un trouble avec le sang du singe : le fait a été démontré une fois de plus par les travaux de Nuttal. Ainsi donc on a cru bon de persister à l'idée de la spécificité tout en admettant une exception qui, au dire de certains auteurs, ne faisait que confirmer la règle. La réaction devenait par conséquent spécifique vis-à-vis du sang qui servait à la préparation de l'animal, et vis-à-vis des êtres de la même espèce : homme-singe, pigeon-poule, etc. Une pareille conception était de nature à rendre facile la pratique de la méthode, le médecin expert n'ayant presque jamais à reconnaître en même temps que les taches du sang humain celles du sang de singe.

Cette opinion erronée fut battue en brèche depuis 1902, époque de l'apparition des travaux de Linossier et Lemoine, qui ont démontré que la spécificité absolue de la réaction faisait défaut et qu'il n'existe qu'une spécificité relative quant à l'espèce, à condition que l'on opère avec de fortes dilutions de sang : chose parfaitement réalisable quand on opère avec les macérations des taches de sang. Nos expériences ont été conformes à ces dernières données. En opérant avec du sang frais et en solution concentrée, nous avons obtenu un précipité dans tous les tubes dans lesquels nous avons mélangé notre sérum réactif avec le sang humain et celui d'animaux différents, avec cette restriction pourtant que le premier précipité en date (2 heures après le mélange et à la température du laboratoire) était dans le tube qui contenait du sang humain ; avec des dilutions de sang étendues et peu colorées en rouge, nous avons obtenu un seul précipité dans le tube contenant le sang humain, le contenu des autres tubes restant parfaitement transparent. La même épreuve

faite avec la macération des taches nous donna les mêmes résultats que les dilutions sanguines étendues.

Par conséquent, nous nous croyons autorisé à dire que, dans la pratique des expertises médico-légales, il existe une spécificité de la réaction en ce sens que l'on obtient un précipité avec la macération de la tache du sang de l'espèce dont le sérum a servi à l'immunisation de l'animal en expérience, mais, qu'en théorie, il n'y a qu'une spécificité relative, à condition que l'on envisage le degré de dilution et le temps nécessaire à l'apparition du premier précipité.

7° *Conservation de la propriété précipitante.* — Une question qui a vivement préoccupé les savants est celle qui consiste à conserver les sérums précipitants sans aucune altération de leur propriété précipitante. Linossier et Lemoine ont tenté d'y arriver par la dessiccation du sérum dans le vide. De Nobele, en desséchant le sérum dans le vide, a obtenu de petites lamelles qu'il a conservées à l'abri de la lumière dans des tubes scellés à la lampe. Le sérum ainsi conservé pendant six mois, possédait encore toute son activité. Arthus et Vansteenberghe ont employé le fluorure de Na à 1 p. 100.

Corin, ayant essayé de le conserver dans le chloroforme sans grand succès, s'est demandé si on ne pouvait pas arriver à des résultats meilleurs en s'adressant à la substance active du sérum, la globuline, que l'auteur caractérise en la dénommant paraglobuline. C'est ce dernier mode de conservation que nous avons étudié d'une manière spéciale et qui nous paraît être supérieur à tous les autres moyens. Mais avant de nous adresser à la paraglobuline, nous avons voulu voir ce que l'on peut penser des autres modes de conservation. Pour cela, nous avons

essayé de conserver le sérum aseptiquement dans des tubes stérilisés, dans la solution de NaFl à 1 p. 100, dans le chloroforme, dans le thymol à 1 p. 100. Les tentatives ont été infructueuses non seulement parce que les sérums se sont altérés par trouble et précipitation, mais encore parce que, dans ces conditions, le pouvoir précipitant va en diminuant pour disparaître entièrement à un moment donné. Le seul moyen que l'on puisse utiliser pour conserver l'activité des sérums précipitants est celui qui consiste à conserver à l'état sec la globuline, qui est la substance active de ces sérums. C'est elle qui permettra à tout expert outillé ou non de faire le diagnostic d'une tache de sang provenant de l'espèce humaine. En effet, dans l'avenir, l'expert chargé d'un tel diagnostic n'aura qu'à se procurer un peu de globuline appartenant à un animal immunisé avec le sérum humain, sans avoir recours à une expérimentation assez longue, demandant une installation particulière.

Etant donnée la grande importance de la question qui nous occupe, nous allons décrire le mode opératoire que nous avons suivi en vue de la conservation de l'activité des sérums précipitants. Voici comment nous avons procédé: Le sérum de l'animal, préparé par des injections de sérum humain est traité par le sulfate de magnésie à saturation. Celle-ci est obtenue par tâtonnement. Le sel est versé dans le sérum par petites quantités, tout en l'agitant avec une baguette de verre. Le sérum se trouble et présente une coloration lactescente. La saturation est complète quand les derniers cristaux du sel ajoutés se dissolvent très difficilement. On laisse reposer le liquide tel qu'il est de 6 à 12 heures à la température ambiante (15-20°). Au bout de ce laps de temps, les flocons de globuline se ramassent au fond du liquide. Par filtration, la

sérine passe à travers le papier à filtre, tandis que la globuline s'y arrête, formant une sorte de pâte adhérente que l'on détache à la pointe d'un couteau préalablement flambé. La globuline que l'on obtient ainsi est redissoute dans quelques centimètres cubes d'eau distillée. La solution est filtrée et précipitée à nouveau au sulfate de magnésie. La même opération est répétée une seconde fois. Une troisième précipitation suit au même sel avec filtration consécutive. Le résidu resté sur le filtre est soigneusement enlevé et placé dans de petits récipients stérilisés. La globuline ainsi obtenue est exempte de toute albumine et peut être longtemps conservée sans perdre ses propriétés.

Lorsque, en cas d'expertise médico-légale, on est appelé à en faire usage, on pèse une certaine quantité de globuline que l'on fait dissoudre dans une quantité déterminée d'eau distillée. Nous conseillons la solution à 1 p. 100 (0,10 centigr. de globuline dans 10 centimètres cubes d'eau distillée) comme donnant les résultats les plus satisfaisants.

La solution obtenue, filtrée pour la débarrasser de l'excès de sulfate de magnésie, est prête à donner la réaction précipitante en présence de la macération d'une tache de sang humain en opérant ainsi qu'il a été indiqué dans l'article 5 du présent chapitre, c'est-à-dire qu'en mettant 2 à 3 centimètres cubes du liquide de macération en présence d'une quantité égale de la solution de globuline à 1 p. 100, on obtient un précipité avec le sang humain (dans 48 heures au maximum).

Il nous paraît indispensable, pour le diagnostic de l'origine d'une tache de sang, de ne point se contenter d'examiner si la tache suspecte donne un précipité avec la solution de globuline normale (globuline précipitant le sang humain),

mais de faire des essais comparatifs avec les macérations de taches de sang des différents animaux avec la même solution de globuline. Dans ces conditions, deux phénomènes peuvent se présenter : ou bien on obtient un précipité unique avec la seule macération de la tache de sang humain, et alors la réaction présente le caractère de spécificité, ou bien on a des précipités encore avec les autres macérations, avec cette caractéristique que le plus abondant et le premier en date est donné par le sang humain. Ce dernier cas, nous avons pu l'éviter en employant des solutions de globuline à 1 p. 100. Le précipité ainsi obtenu a été net à la température du laboratoire au bout de 48 heures, précédé les 24 premières heures par un trouble spécifique. Les solutions plus concentrées nous ont donné un précipité au bout d'un temps moins long (solution au 1/50 précipité dans 24 heures) n'ayant rien de spécifique, parce que, dans les mêmes circonstances, les macérations des taches de sang d'espèces différentes ont présenté un trouble qui ne tarda pas à se transformer en précipité moins abondant cependant que celui donné par la macération de tache de sang humain.

CHAPITRE III

NOS EXPÉRIENCES

La question de la diagnose de l'origine du sang par le procédé des sérums précipitants, n'étant pas encore tranchée d'une manière définitive, nous avons entrepris, sous l'inspiration de notre maître M. le professeur Sarda, une série d'expériences pour nous rendre compte de la valeur réelle de la méthode, contribuer ainsi à sa vulgarisation et indiquer ce qui peut entrer dans la pratique des expertises médico-légales.

Après avoir indiqué la technique opératoire, nous croyons indispensable de rapporter les principales expériences qui nous ont servi de guide pour la rédaction du chapitre précédent.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — *Sérum d'âne injecté au lapin.*

Le 18 oct. 1903, nous avons retiré 800 cc. de sang à un âne. Le liquide, reçu dans un flacon aseptique, fut posé jusqu'au 22 dans un endroit obscur et frais du laboratoire

pour faciliter la séparation du sérum. Le sérum, très limpide, fut recueilli dans une série de petits flacons aseptisés de 50 cc. Nous avons fait nos premiers essais d'immunisation sur des cobayes. Les résultats furent peu encourageants, quelques uns des animaux ayant succombé de péritonite de la 3^{me} à la 4^{me} injection de 5 cc. dans le péritoine, les autres n'ayant donné qu'une minime quantité de sérum inutilisable.

En même temps que les cobayes, nous avons injecté deux lapins noirs de 2 kil. chacun.

23 octobre 1903. 1re injection de 5 cc. du sérum d'âne dans le péritoine.

30 octobre 1903. 2^{e} injection de 5 cc. du sérum d'âne dans le péritoine.

6 novembre 1903. 3^{e} injection de 5 cc. du sérum d'âne dans le péritoine.

13 novembre 1903. 4^{e} injection de 5 cc. du sérum d'âne dans le péritoine.

20 novembre 1903. 5^{e} injection de 5 cc. du sérum d'âne dans le péritoine.

28 novembre 1903. Saignée de l'animal.

Le sang, recueilli aseptiquement, fut exposé à l'abri de la lumière et de la chaleur pour la séparation du sérum. Ce sérum n'étant pas bien limpide fut filtré à deux fois successives.

Le 1er décembre 1903, à la température de 12°, 3 cc. de sérum de lapin furent distribués dans quatre tubes à essai contenant chacun deux gouttes de sang d'âne, chien, cobaye, homme. Un trouble apparut immédiatement dans chacun des tubes, mais beaucoup plus abondant dans le tube contenant le sang d'âne. Deux heures après le trouble fut remplacé par un précipité au fond des tubes, beaucoup plus précoce et plus marqué dans le tube à

sang d'âne. Le précipité s'accentua jusqu'au lendemain matin, apparaissant ainsi dans tous les tubes. Dans ces conditions nous avons cherché jusqu'à quel degré de dilution le précipité persistait dans les différents tubes. C'est ainsi que le 2 décembre nous avons ajouté 2 cc. d'eau distillée dans chacun de nos tubes. Le précipité disparut, sauf dans le tube contenant le sang d'âne, pour reparaître le lendemain matin mais en très petite quantité. La même opération fut répétée ce jour-là et 2 cc. furent ajoutés à nouveau à chacun des tubes.

Le 4 décembre, le précipité étant assez volumineux dans le tube à sang d'âne et à peine marqué dans le tube à sang humain, nous avons ajouté 5 cc. d'eau distillée dans chacun de ces deux tubes et, en renouvelant la même opération le lendemain, nous sommes arrivé à n'obtenir qu'un seul précipité, et cela dans le tube contenant le sang d'âne. Ainsi donc le précipité caractéristique de la réaction n'a été obtenu qu'avec une goutte de sang d'âne en présence d'un 1/2 cc. de sérum dilué dans 12 d'eau distillée.

Deuxième Expérience. — *Même sérum en état de putréfaction.*

Le 14 décembre 1903, 5 cc. de sérum du même lapin, en voie de putréfaction, sont portés à 15 cc. par addition de 10 cc. d'eau distillée. Les 15 cc. sont répartis en quantité égale dans quatre tubes. Dans chacun des tubes nous avons ajouté au sérum deux gouttes de sang des espèces suivantes: âne, cobaye, chien, homme. L'expérience faite le matin à 11 h. 1/2, à la température de 12°,

on observe un précipité caractéristique à 3 h. de l'après-midi dans le tube contenant du sang d'âne. Aucune trace de précipité ni de trouble dans les autres tubes. Le lendemain matin, le même phénomène persiste. Mais le 16 décembre, un trouble se manifeste à la surface des liquides dû probablement à leur altération, l'expérience ayant été pratiquée d'une façon septique.

Troisième Expérience. — *Liquide ascitique injecté au chien.*

Le 31 octobre 1903 on recueille aseptiquement 200 cc. de liquide ascitique très limpide et de couleur jaune citrin provenant d'une cirrhose atrophique. Le liquide est injecté dans le péritoine de deux chiens, l'un de 7 kil. et l'autre de 4 kil. 500. Chacun d'eux reçoit une injection de 5 cc. toutes les semaines. A la fin de la cinquième semaine nous retirons quelques centimètres cubes de sang en piquant l'oreille de l'un des animaux. 3 cc. du sérum obtenu sont additionnés à une goutte de sang humain. Le mélange ne nous a produit ni précipité ni trouble de 24 à 48 heures après.

Avant de conclure d'une manière formelle que l'expérience était négative, nous avons voulu faire une dernière tentative. Pour cela nous avons ponctionné la jugulaire du chien et nous avons eu 200 cc. de sang. 2-3 cc. du sérum obtenu nous les avons mis en présence de deux gouttes de sang humain, sang de chien, lapin et sang d'âne, sans qu'aucune précipitation ne se soit manifestée dans l'espace de 48 heures. Par conséquent le sérum du chien se montra nettement inactif, le nombre d'injections

de liquide ascitique n'ayant pas été suffisant pour son immunisation.

Quatrième expérience. — *Sérum humain injecté au chien*

L'expérience précédente nous a amené à faire de nouveaux essais sur le chien en substituant au liquide ascitique le sérum humain.

Pour cela, ayant eu l'occasion d'avoir 150 cc. de sérum, nous avons essayé d'immuniser deux chiens l'un de 6 kil. 100 et l'autre de 5 kil. 800. Le premier reçut tous les 6 jours 5 cc. de sérum en injections intrapéritonéales, le second la même quantité et dans le même intervalle, mais dans le tissu cellulaire sous-cutané. Huit jours après la cinquième injection, nous avons retiré 150 cc. de sang en ponctionnant la jugulaire du premier. Le lendemain de la saignée, nous avons expérimenté le sérum obtenu : 1° avec du sang frais ; 2° avec la macération de taches de sang. Pour cela, nous avons pris deux séries de tubes contenant chacun 3 cc. du sérum de chien : dans la première série nous avons mis notre sérum en présence de trois gouttes de sang d'homme, chien, lapin, âne ; dans la seconde, le sang frais a été remplacé par la macération des taches de sang de 3-5 millimètres de diamètre, dans 2 cc. de sérum physiologique. Les taches datant de quelques jours avaient été faites sur des compresses avec du sang humain, sang de chien, lapin et sang d'âne.

L'expérience faite vers 3 h. de l'après-midi n'avait donné encore aucun précipité le lendemain matin. Seul, le tube contenant les trois gouttes de sang humain frais

présentait au fond du tube, autour du petit dépôt des globules rouges, un très léger halo blanchâtre. Notre expérience était donc négative, le nombre d'injections n'ayant pas été suffisant pour immuniser l'animal.

CINQUIÈME EXPÉRIENCE. — *Lapins injectés de sérum humain*

Le chien n'ayant pas donné des résultats satisfaisants, son immunisation exigeant de grandes quantités de sérum, nous nous sommes décidé à continuer nos recherches en nous servant du lapin. Ainsi donc le 6 février 1904 nous avons commencé à injecter deux lapins gris de 2 k. à 2 k. 500. Chacun d'eux recevait 5 cc. de sérum tous les trois jours. Mais tandis que le premier recevait des injections intrapéritonéales, le second les recevait dans le tissu cellulaire sous-cutané. Après la cinquième injection, le 22 février, nous avons sacrifié nos deux lapins pour expérimenter séparément leur sérum et voir si, d'une part, il était précipitant vis-à-vis du sang humain et, d'autre part, s'il n'y avait pas de différence dans la réaction entre le sérum des deux lapins. Pour cela, nous avons disposé deux séries de petits tubes à pied, à fond conique, de 10 cent. de hauteur sur 4 mill. de diamètre. Dans la première série nous avons versé 2 cc. de sérum du lapin immunisé par des njections sous-cutanées ; dans la seconde, 2 cc. de sérum du lapin préparé par des injections intra-péritonéa les. Dans les tubes de chaque série nous avons ajouté deux gouttes de sang humain, de chien et de lapin. L'expérience fut pratiquée le matin à 11 heures, et on observa un trouble floconneux vers 2 heures de l'après-midi dans les tubes contenant le sang humain : le lendemain matin,

le trouble était transformé en précipité caractéristique aussi abondant dans le tube contenant le sérum du lapin immunisé par voie sous-cutanée que dans le tube contenant le sérum du lapin immunisé par voie intra péritonéale.

Le contenu des autres tubes était resté parfaitement transparent.

Sixième Expérience. — *Même sérum, taches de sang.*

Nous avons employé le sérum des lapins précédents non seulement pour la recherche de l'origine du sang frais mais aussi pour le diagnostic de l'origine des taches du sang exposées à la dessiccation depuis deux mois. Ces taches ont été faites sur des compresses avec du sang humain, sang de chien, de lapin et sang d'âne. Pour observer la réaction, nous avons fait macérer une parcelle de quelques millimètres des étoffes maculées dans 2cc. de sérum physiologique à 7 p. 1000 dans un verre de montre. Après une macération de 1/2 h., chacun des liquides obtenus fut versé dans un des tubes précipités contenant 2 cc. de sérum de lapin.

Dans l'espace de 24 h., nous avons observé un précipité net dans le tube contenant la macération de tache de sang humain. L'expérience, répétée dans les mêmes conditions, donna les mêmes résultats positifs.

Septième Expérience — *Même sérum, taches anciennes.*

Le sérum ci-dessus a été employé le 4 mars 1904 pour déterminer l'origine humaine des taches de sang. Les taches se trouvaient sur un morceau d'étoffe maculée en octobre 1902 et provenant d'une affaire d'assassinat.

L'expérience faite dans les mêmes conditions a été positive, notre sérum donnant un précipité abondant avec la solution saline provenant de la macération des dites taches.

Les macérations des mêmes taches donnèrent des résultats comparables à ceux-ci avec la globuline fraîche du même sérum.

Huitième expérience. — *Globuline du même sérum.*

Du sérum précédent nous avons séparé la globuline de la sérine et nous sommes servi de la première comme substance active. Pour cela, nous avons suivi les conseils donnés par Corin. 25 gr. de notre sérum furent saturés de sulfate de magnésie. Le précipité obtenu fut filtré, extrait du filtre et redissous dans l'eau distillée, puis de nouveau filtré. La même opération a été répétée trois fois. Ainsi nous avons obtenu une solution de globuline destinée à être employée à la place du sérum lui-même. 3 cc. de cette solution ont été traités dans chacun de nos tubes par deux gouttes de sang humain, sang de chien, lapin et

sang d'âne. Au bout de 24 heures, un précipité net se forma dans le tube qui contenait du sang humain avec un très léger halo au fond du tube contenant du sang d'âne. Par conséquent cette expérience semble bien montrer que la globuline est la substance active des sérums précipitants.

Neuvième Expérience. — *Lapin injecté de globuline pleurétique.*

L'expérience négative des chiens injectés avec du liquide ascitique et la conception que la globuline agit comme substance des sérums, nous ont amené à revenir sur les expériences de Nolf, Leblanc, Corin, Linossier et Lemoine. De 150 cc. de liquide d'un hydrothorax, nous avons extrait la globuline par le procédé déjà décrit.

La solution de globuline obtenue fut injectée dans le tissu cellulaire sous-cutané d'un lapin gris de 2 k. 620. Les injections ont été de 5 cc., faites à 3 jours d'intervalle avec saignée de l'animal le 16e jour après la première injection. 3 cc. du sérum obtenu furent mélangés à deux gouttes de sang d'homme, chien, lapin et sang d'âne dans chacun de nos tubes coniques. L'expérience faite à 4 h. du soir nous présente un précipité trouble le lendemain matin, dans le tube contenant du sang humain, le contenu des autres restant limpide.

Notre sérum étant précipitant envers le sang humain frais à l'exclusion du sang d'autres espèces, nous avons cherché si la réaction était aussi positive avec la macération des taches de sang. C'est ainsi que 3 cc. de notre sérum furent mélangés à 2 cc. de la macération saline

des quelques millimètres de diamètre des taches de sang humain, chien, âne, faites sur des compresses depuis 2 mois. Ceci fait à 11 h. 1/2 du matin, aucune réaction n'a été observée jusqu'à 3 h. du soir, mais le lendemain matin un précipité net existait au fond du tube contenant la macération de tache de sang humain.

L'expérience étant conforme à nos prévisions, nous avons précipité la globuline du sérum suivant le procédé habituel. La globuline obtenue fut conservée bien aseptiquement depuis le 15 mars 1904 jusqu'au 7 avril 1904. Alors 0,10 centigr. de globuline furent dissous dans 10 cc. d'eau distillée ; après filtration, le liquide de la solution fut mélangé, dans quatre tubes, avec le liquide de la macération des taches de sang de chien, âne, mouton, datant de la veille et de tache de sang humain existant sur du linge maculé depuis un mois. Dans les 24 premières heures aucune précipitation ne se manifesta. Sans perdre patience, nous avons attendu encore 24 h. et nous ne fûmes nullement surpris de voir qu'un précipité finit par apparaître dans le tube à sang humain sans qu'aucun trouble se soit manifesté dans les autres tubes, ce qui ne persista pourtant pas, car, à la suite, des précipités peu abondants y ont apparu.

Cette dernière particularité ne diminue en rien la valeur de l'expérience, le précipité le plus abondant et le premier en date étant le spécifique.

Dixième Expérience. — *Relative à la conservation de la propriété précipitante.*

La question de la conservation de la propriété précipitante nous ayant particulièrement préoccupé, nous avons voulu voir ce que peuvent donner les différents moyens proposés par les auteurs. Pour cela, le 24 février 1904, nous avons conservé aussi aseptiquement que possible dans un tube obturé au coton hydrophile, 5 cc. du sérum d'un lapin préparé avec des injections sous-cutanées de sérum humain.

Le 2 mars 1904, à 5 cc. de sérum d'un autre lapin préparé de la même manière, nous avons additionné 5 cc. d'une solution de NaFl à 1 0/0. D'un autre côté la même quantité de sérum fut mélangée à une quantité égale de chloroforme. Enfin nous avons voulu faire un nouvel essai en employant le thymol comme moyen de conservation et le même jour 5 cc. du même sérum furent mis en présence de 5 cc. de la solution de thymol à 1 0/0. Le tout a été conservé d'une façon aseptique.

Le 9 avril 1904, nous avons expérimenté toutes les préparations précédendes afin de voir si la propriété précipitante des sérums conservés était aussi active qu'à l'état frais.

Les liquides étant légèrement troublés mais ayant surtout donné une abondante précipitation, nous les avons filtrés. Puis au liquide de filtration nous avons ajouté 3 cc. de la macération de tache de sang humain datant de quelques jours.

L'expérience ne montra aucun précipité caractéristique le premier jour, mais dans les 24 h. une légère précipitation se montra dans le tube qui contenait le sérum conservé dans le NaFl : précipitation qui n'était nullement aussi caractéristique que celle donnée par le même sérum à l'état frais. Les trois autres sérums ne donnèrent absolument rien. On voit par conséquent que la conservation des sérums précipitants par des moyens chimiques est chose à peu près illusoire, leur propriété précipitante disparaissant à la longue avec leur limpidité.

Onzième et Douzième Expériences. — *Relatives à la conservation de la globuline*

L'isolement et la conservation de la globuline nous ont amené à continuer nos recherches pour arriver à des conclusions rassurantes au point de vue de la valeur réelle de la méthode. C'est ainsi que nous avons pratiqué les deux expériences suivantes :

A. — Le 22 mars 1904, ayant eu l'occasion d'avoir à notre disposition du sérum humain provenant d'un malade urémique, nous avons immunisé un lapin noir de 2 kil. 200 de la façon suivante :

22 mars 1904. — 1re injection de 5 cc. dans le tissu cellulaire sous cutané.

24 mars. — 2me injection de 10 cc. dans le tissu cellulaire sous-cutané.

26 mars. — 3e injection de 10 cc. dans le tissu cellulaire sous-cutané.

28 mars. — 4e injection de 10 cc. dans le tissu cellulaire sous-cutané.

Le 5 avril, l'animal a été sacrifié et son sang recueilli aseptiquement pour l'extraction du sérum.

Le 8 avril, l'activité du sérum a été essayée avec la solution de macération des taches de sang humain, sang de chien, de lapin et d'âne, de la même manière qu'il a été indiqué plus haut.

Les résultats ont été satisfaisants en ce sens que nous avons obtenu dans les 24 heures un précipité caractéristique avec la macération des taches de sang humain.

La réaction ayant été positive, nous avons isolé la globuline du sérum par le procédé de la précipitation au sulfate de magnésie.

La globuline ainsi obtenue donna, à l'état frais, un précipité spécifique en présence de la macération des taches de sang humain dans l'espace de 24 heures ; par la suite, des troubles se sont montrés dans les tubes contenant la macération des taches de sang d'autres espèces.

En nous servant de cette globuline, après dessiccation spontanée, nous avons cherché à déterminer le degré de la solution titrée que l'on pourrait employer, dans la pratique, pour la diagnose de l'origine des taches de sang humain.

C'est ainsi que le 22 avril, 20 centigrammes de globuline pulvérulente ont été dissous dans 10 cc. d'eau distillée. La solution, après filtration, a été répartie dans quatre tubes et mise en présence de 2 cc. de la macération saline de taches de sang humain, sang de chien, âne et lapin. Les taches remontaient à deux mois et leur macération, de 1/2 h. de durée, était faite dans des verres de montre en présence de la solution physiologique de NaCl à 7 0/00. L'expérience ne donna rien de spécifique parce que des précipités apparurent dans tous les tubes :

cependant le précipité le plus précoce et le plus abondant existait dans le tube à sang humain.

Les mêmes tentatives, plus ou moins infructueuses, ont été répétées avec différents degrés de concentration de globuline. La seule dilution qui nous ait donné de bons résultats, était celle qui fut titrée à 1 0/0 (10 centigr. de globuline dissous dans 10 cc. d'eau distillée).

Le précipité spécifique, dans ce cas, n'a été constaté que dans l'espace de 48 h.

Le 9 juin 1904, la même solution a été mise en présence des macérations salines des taches de sang humain, de mouton, chien et âne faites sur des compresses le 6 avril. Un précipité abondant et caractéristique fut observé dans 48 h. dans le tube à sang humain. La macération de tache de sang de chien donna, dans le même laps de temps, une très légère précipitation. Pendant les jours suivants, un léger précipité se manifesta dans les autres tubes, phénomène de peu d'importance pratique, étant donné que le précipité spécifique fourni par la macération de tache de sang humain fut le plus précoce et le plus abondant.

Le 25 juin, la même réaction fut observée dans les mêmes conditions.

B.— Le 26 mars 1904, nous avons commencé une série d'injections de liquide à un lapin gris de 2 kilos.

Le 26 mars l'animal reçut 10 c.c. de liquide en injection sous-cutanée.

28 mars. — Deuxième injection sous-cutanée de 10 cc.
30 — Troisième — — —
1er avril. — Quatrième — — —

L'animal fut sacrifié le 9 avril, la globuline de son sérum précipitée et conservée suivant le procédé connu.

Le 29 avril, 10 centigr. de globuline en poudre furent dissous dans 10 cc. d'eau distillée :

La solution, mise en présence des macérations salines des taches de sang d'homme, mouton, chien et âne, datant du 9 avril, nous a toujours donné un précipité abondant dans les 48 h. dans le tube à sang humain, et une légère précipitation dans le tube à sang de chien.

Le 13 juin, un nouvel essai fut pratiqué avec la solution de globuline à 1 0/0 et les macérations de taches de sang humain, de mouton et âne faites le 6 avril et la macération des taches de chien faites sur des compresses le 11 juin. Dans les 48 h., nous avons observé un précipité abondant dans le tube à sang humain, mais le tube à sang de chien n'a point manqué de présenter un précipité presque aussi abondant.

Le fait est dû à ce que les taches à sang de chien n'ont pas été suffisamment sèches et comparables, à ce point de vue, aux taches faites le 9 avril.

CHAPITRE IV

CONCLUSIONS

1° La méthode des sérums précipitants pour le diagnostic de l'origine des taches de sang est appelée à rendre de grands services en médecine légale ;

2° La prétendue spécificité des sérums précipitants n'a rien d'absolu. En opérant avec des solutions concentrées de sang, il n'y a point de précipitation spécifique. Pour que celle-ci existe, il faut expérimenter avec des solutions sanguines très diluées ;

3° Dans la pratique des expertises, avant de se prononcer sur l'origine probablement humaine d'une tache de sang, il importe de ne point se contenter du précipité obtenu par la macération de la tache suspecte, mais il est absolument nécessaire de faire des essais comparatifs, dans les mêmes conditions, avec des taches d'autres espèces afin de se rendre compte de l'abondance et du temps d'apparition des précipités (s'il y en a plus d'un) ;

4° La température a une influence manifeste sur la réaction. Ainsi la précipitation donnée par le sérum réactif, apparaît dans l'espace d'une heure à la température de 32-37°. Les températures élevées (au-dessus de 65°) la détruisent ;

5° L'expérience montre que l'addition des substances

chimiques conservatrices diminue l'activité précipitante dans peu de temps ;

6° La substance active des sérums précipitants est la globuline, matière conservable à l'état pulvérulent ;

7° Le temps d'apparition du précipité spécifique est variable suivant que l'on opère avec le sang frais et la macération des taches en présence du sérum ou en présence de la globuline. La précipitation des solutions diluées de sang frais apparaît dans 2-6 heures aux environs de 15°, celle de la macération d'une tache de sang en présence du sérum réactif apparaît dans 3-24 heures, tandis que l'apparition du précipité obtenu avec les solutions de globuline en présence de la macération saline des taches, varie de 24-48 heures suivant le titre de la concentration. La solution de globuline à 1 °/₀ que nous conseillons comme la plus efficace, donne un précipité spécifique dans 48 heures à la température ordinaire ;

8° Si l'on emploie les sérums précipitants et non la globuline, il faut que ceux-ci soient de préparation récente ;

9° En matière d'expertise, le procédé de Bordet-Uhlenhut sera le principal élément d'investigation, après l'examen spectroscopique et la recherche des cristaux de chlorhydrate d'hémine.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

Arthus. — Bull. de Soc. de chimie, 5 VII 1901.

Arthus et Vansteenberghe. — Soc. de biol., 1 V 1902.

Ascoli. — Münchener med. Wochens., nos 16 et 34, 1902.

Austin. — Boston med. and Surg. Journal, vol. CXLVIII, p. 279-281.

Barthe (L.). — Bull. de Soc. de pharm. de Bordeaux, I, III, X, 1902.

Baumgarten. — Deutsch. med. Wochens, n° 45, 1902.

Beumer. — Zeitschr. f. medicinalbeante, 6 XII 1902.

Bezzola. — Riforma medica, nos 42, 43, 1902.

Binda. — Giornale de medicina legale, 1901-1902.

Biondi Cesare. — Gerichliche méd., cité par Deutsch. Woch., n° 46, 1902.

Blumenthal. — Arch. russes de path. médicale et bactériol., 1901.

Bordet. — Ann. Institut Pasteur, t. XIII, p. 225 ; t. XIV, p. 255 ; t. XII, p. 688, 1899.

Bordet et Gengon. — Ann. Institut Pasteur, t. XV, p. 129.

Buchner und Geret. — Münsch. med. Wochens., n° 7, 1901.

Butza. — Spiritul., nos 9 et 10, 1902, et Comp. rend. Soc. Biologie, LIV, p. 406.

Camus. — Comp. rend. Acad. sciences, 28 I 1901.

Camus et Glay. — Ann. Inst. Pasteur, t. XII, p. 779.

Capoglossi. — Riforma medica, nos 4, 9, 1902.

Carrara. — L'Arte medica, n° 34, 1901.

Carlo Ferrai. — Bollet della R. Academia d. Genova, n° 7, 1901.

Castellani. — The Lancet, 28 VI 1902.

Cheinisse. — Semaine médicale, 1901, p. 66.

Chirokikh. — Wratch, n° 25, 1901.

Corin. — Ann. de Société de méd. légale de Belgique, 13e année, no 1.

— Archives d'anthropologie criminelle, n° 94, 1901.

Corin. — Vierteljahrsschrift f. ger. med., I, 1902.
De Nobele. — Ann. de Soc. de méd. de Gand, 1901, p. 331.
De Castello et Sturli. — Münchener med. Wochen, nos 26, 27, 1902 ;
Deutsch. — XIIIe Congrès internat. de méd. de Paris 1900, et Revue scientifique, 20 X 1900.
Dieudonné. — Münsch. med. Wochens., nos 14, 48, 1901.
Dikelspiel. — Journal of Hygiene, n° 3, 1901.
Dungern. — Münsch. med. Woch., nos 13, 14, 1899.
Erlich und Mougenroth. — Berliner Klin. Woch., nos 1, 22, 1899 ; n° 21, 1901.
Falloïse. — Ann. Inst. Pasteur, t. XVI, 1902, p. 833.
Farnum. — Journal of the American med. Associat., 28 XII 1901.
Fish. — Saint-Louis Courier of medecine II, 1900.
Halban und Landsteiner. — Münsch. med. Woch, n° 12, 1902.
Kister et Wolf. — Zeitschrift für med., n° 7, 1902.
Kowarski. — Deutsch med. Woch., n° 27, 1901.
Kraus. — Wiener Klin. Woch., nos 32, 1897 ; 29, 1901.
Latapie. — Ann. Inst. Past., t. XIV, p. 106.
Layton. — Chicago path. Soc., 31 V 1901.
Leblanc. — La cellule, t. XVIII.
Leblanc (A.). — Thèse Bordeaux, 1903, n° 99.
Leclainche et Rémond. — C. R. S. Biol., 26 V 1894.
Leclainche et Vallée. — S. Biol., 19 I 1901.
Lemaire. — Arch. de pharmacodynamie, 1899.
Linossier et Lemoine. — S. de Biol, 25 I ; 8 II ; 15 II ; 12 III 1902. Echo médical de Lyon, 15 VII 1902. Semaine médicale, n° 13, 1902. Bull. de l'acad. de médecine, 25 III 1902.
Lisle. — New-York med Journal, 13 XI 1902.
Lœffler. — Deutsch. med. Woch., n° 36, 1902.
Mairet et Bosc. — Société. Biol., VI, VII, X 1894.
Marfadyen. — Centralblatt für Bactériol., 1901.
Marshall et Mogenroth. — Centralbl. für Bacter., Bd. XXXI, n° 12.
Marchetti. — Thèse Lyon, 1902, n° 17.
Mertens. — Deutsch. med. Woch., nv 11, 1901, p. 161.
Metchnikoff. — Revue générale des sciences, 1901, p. 7.
Michaelis. — Deutsch. med. Wochen, n° 41, 1902.
Minovici. — Deutsch. med. Wochen, n° 24, 1902, et Berliner Klin. Woch., n° 7, 1901.
Mirto. — Riforma medica, n° 222, 1901.
Müller. — Munch. med. Woch., n° 7, 1902.

Myers Walter. — The Lancet, vol. 2, p. 98, 1900.
Nicolle. — Ann. Inst. Pasteur, t. XII, 1898, p. 161.
Niedrigailoff. — Wratch., 1901, n° 32.
Nolf. — Ann. Inst. Pasteur, 1900, t. XIV, p. 297.
Nuttal. — The Journal of Hygiene, VII, 1901, et The British med. Journal, 5 IV 1902, p. 825.
Nuttal et Dinkelspiel. — British. med. Journal, 11, III, 1901.
Nuttal. — Blood immunity and Blood relationship. Cambridge, 1904.
Ogier et Herscher. — Soc. de méd. légale, 12 V 1902 ; 15 IV 1901, et Arch. Anthrop. criminelle, n° 93, 1901.
Okamoto. — Vierteljahrschr. f. gerichtl. med., X, 1902.
Perrando et Gianelli. — La Riforma medica, n° 70, 1902.
Pick. — Hofmeister's Beiträge, 1901.
Romme. — Revue des revues, V, 1901.
Rostoski. — Münchn. med. Woch., 1902.
Ruffer et Grendiropoulo. — British med. Journal, 5, IV, 1902, p. 82.
Schattenfroh. — Münchn. med. Woch., n° 31, 1901.
Shibayama. — Deutsch. med. Woch., n° 1, 1902, p. 6.
Schutze. — Deutsch. med. Woch., n° 45, 1902, p. 804, et Zeitschrift für hygiene n° 29, I, 1901 et 1902.
Stelle. — Leyden's Festschrift, 1902.
Stern (R.). — Deutsch. med. Wochens, n° 9, 1901, p. 135.
Stockis (E.). — Ann. de Soc. médico-chirurgicale de Liège, V, 1901.
Strenesco. — Ann. d'hygiène et méd. légale, IX, 1902.
Strube. — Deutsch. med. Wochens, n° 24, 1902, p. 425.
Tarasewitsch und Schastug. — Russkij Wratch., n° 31, 1902.
Tarchetti. — Gazz. degli ospedali, 10 V 1901.
Tchistowitsch. — Ann. Inst. Pasteur, t. XIII, p. 406.
Uhlenhut. — Deutsch. med. Woch., n°s 6, p. 82 ; 17, p. 260 ; 30, p. 499 ; 45, p. 780 ; 46, p. 734, 1901.
— Münch. med. Woch., n° 8, 1901, et Arch. f. kriminal anthropologia und kriminalistik, V, 1901.
— Deutsch. med. Woch., n°s 36, p. 279 ; 37, p. 659 ; 38, p. 679, 1902.
Umber. — Berliner klin. Wochen, n° 28, 1902, p. 657.
Vallée et Nicolas. — Bull. de la Soc. Cent. de méd. vétérin., 30, VI, 1903.
Vansteenberghe. — Thèse Lille, 1901, n° 38.
Verfasser. — Leyden's Fertschrift Bd. II, 5, 314, 1901.

Vassermann et Schütze. — Berlin. klin. Woch., n° 7, 1901.
— Deutsch. med. Woch., n°s 29, p. 178 ; 30, p. 182, 1900 ; 27, p. 483, 1902.
Wood. — Boston med. and surg. Journal, 14 XI 1901.
Ziemke. — Deutsch. med. Woch., n°s 42, p. 731 ; 26, p. 424, 1901.
Znelzer. — Deutsch. med. Woch., n° 14, p. 219, 1901.

Vu et permis d'imprimer
Montpellier, le 3 juillet 1904.
Le Recteur,
Ant. BENOIST.

Vu et approuvé
Montpellier, le 3 juillet 1904.
Le Doyen,
MAIRET.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples, et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !