

Notes

Conservation des anticorps sériques de la syphilis soumis à différentes températures*

par A. VAISMAN, Directeur, A. PARIS-HAMELIN, Directeur-Adjoint, L. BEAUGER, aide technique, et S. FUSTEC-IBARBOURE, aide technique, Institut Alfred Fournier, Centre international OMS de référence pour les tréponématoses endémiques, Paris, France

Conservation à des températures constantes comprises entre -180°C et $+37^{\circ}\text{C}$

Dans un précédent travail,^a nous avons étudié la conservation des anticorps sériques syphilitiques dans un pool de sérums soumis à des températures constantes de -180°C , -20°C , $+4^{\circ}\text{C}$, $+22^{\circ}\text{C}$ et $+37^{\circ}\text{C}$, pendant 6 mois.

Nous avons constaté qu'aux températures de -180°C (azote liquide), -20°C et $+4^{\circ}\text{C}$, il n'y avait, après 6 mois, aucune diminution du titre du sérum vis-à-vis de toutes les réactions (BW Reiter, test d'immobilisation des tréponèmes (TIT), réaction d'immunofluorescence (IF), BW Kolmer, Kline, Kahn). Seul le Kahn avait accusé une légère baisse de titre au 5^e mois.

A la température normale du laboratoire ($+22^{\circ}\text{C}$), on notait, sauf pour le Kline, une légère diminution de réactivité du sérum; à $+37^{\circ}\text{C}$, les anticorps s'étaient moins bien conservés et les titres avaient beaucoup diminué puisque le sérum s'était même négativé au BW Kolmer au 6^e mois.

Nous avons poursuivi cette étude et effectué des contrôles au 9^e et au 12^e mois. Nous rapportons ici les résultats d'ensemble de la conservation des anticorps sur une période d'un an (tableau 1).

De ces résultats, il ressort que la conservation des anticorps sériques syphilitiques est excellente pour des sérums gardés congelés, stériles et sans antiseptique. Ce n'est qu'à partir de $+4^{\circ}\text{C}$ qu'une légère diminution du titre des anticorps commence à se manifester mais, même après un an de conservation, cette diminution reste faible. Au contraire à $+22^{\circ}\text{C}$ et surtout à $+37^{\circ}\text{C}$, la dégradation des anticorps, donc des globulines sériques, est beaucoup plus importante car, à l'exception de l'IF qui reste encore positive à un titre appréciable, la positivité des réactions diminue fortement, sans en arriver, toutefois, à la négativation complète, sauf pour le BW Kolmer.

* Cette recherche a bénéficié d'une aide financière de l'Organisation mondiale de la Santé.

^a Vaisman, A. & Paris-Hamelin, A. (1966) *Bull. Org. mond. Santé*, 34, 461.

TABLEAU 1
ÉVOLUTION DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES EN FONCTION DE LA DURÉE ET DE LA TEMPÉRATURE DE CONSERVATION DES SÉRUMS

Réaction	Durée de conservation (mois)	Titre ^a des sérums conservés à				
		-180°C	-20°C	$+4^{\circ}\text{C}$	$+22^{\circ}\text{C}$	$+37^{\circ}\text{C}$
TIT	0	320	320	320	320	320
	6	320	320	320	80	10
	9	320	320	320	80	10
	12	320	320	320	40	10
IF	0	6400	6400	6400	6400	6400
	6	6400	6400	6400	3200	1600
	9	6400	6400	3200	3200	1600
	12	6400	6400	1600	1600	1600
BW Reiter	0	128	128	128	128	128
	6	128	128	128	32	8
	9	128	128	128	16	8
	12	128	64	32	8	4
BW Kolmer	0	128	128	128	128	128
	6	128	128	128	8	0
	9	128	64	32	8	0
	12	128	64	16	4	0
Kline	0	16	16	16	16	16
	6	16	16	16	16	1
	9	16	16	16	8	1
	12	16	16	8	4	1
Kahn	0	32	32	32	32	32
	6	32	32	16	8	2
	9	32	32	8	4	1
	12	32	32	8	4	1

^a Inverse de la plus petite dilution du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

TABLEAU 2
ÉVOLUTION DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES PENDANT LA CONSERVATION
A -180°C

Durée de conservation (jours)	Titre ^a du lot conservé à -180°C					
	BW Reiter	BW Kolmer	Kline	VDRL	TIT	IF
1	64	64	16	16	640	3200
8	64	64	16	16	640	3200
15	64	64	16	16	640	3200
34	64	64	16	16	640	3200
54	64	64	16	16	640	3200
75	64	64	16	16	640	3200
104	64	64	16	16	640	3200
118	64	32	16	16	640	3200
133	64	32	16	16	640	3200
168	64	32	16	16	640	3200
212	64	32	16	16	640	3200
256	32	32	16	16	640	3200
300	32	32	8	8	640	3200
365	32	32	8	8	640	3200

^a Inverse de la plus petite dilution du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

TABLEAU 3
ÉVOLUTION DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES PENDANT LA CONSERVATION
A +37°C

Durée de conservation (jours)	Titre ^a du lot conservé à +37°C					
	BW Reiter	BW Kolmer	Kline	VDRL	TIT	IF
1	64	64	16	16	640	3200
8	64	64	16	16	640	3200
15	64	32	8	8	640	3200
34	32	32	8	8	640	3200
54	32	16	8	8	640	3200
75	32	8	8	4	640	2400
104	16	8	4	2	320	2400
118	16	8	2	2	320	1600
133	16	8	2	2	320	1600
168	8	8	2	1	120	800
212	8	8	1	1	60	800
256	4	4	1	1	40	800
300	0	4	0	0	40	800
365	0	0	0	0	10	400

^a Inverse de la plus petite dilution du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

TABLEAU 4
ÉVOLUTION DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES PENDANT LA CONSERVATION
ALTERNATIVEMENT A -180°C ET A $+37^{\circ}\text{C}$

Durée de conservation (jours)	Titre ^a du lot placé 24 heures à -180°C et 24 heures à $+37^{\circ}\text{C}$ alternativement					
	BW Reiter	BW Kolmer	Kline	VDRL	TIT	IF
1	64	64	16	16	640	3200
8	32	64	16	16	640	3200
15	32	32	16	8	640	3200
34	32	32	16	4	640	3200
54	32	32	16	4	640	3200
75	32	32	16	4	480	2400
104	16	16	4	2	480	1600
118	16	8	4	2	480	1600
133	16	8	4	2	480	1600
168	8	4	2	1	480	1600
212	8	4	2	1	320	1600
256	4	4	1	1	320	800
300	2	0	1	1	320	800
365	2	0	0	0	320	800

^a Inverse de la plus petite dilution du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

Conservation à des températures oscillant quotidiennement entre -180°C et $+37^{\circ}\text{C}$

Pour compléter ce premier travail, nous avons étudié l'influence des variations de température quotidiennes de -180°C à $+37^{\circ}\text{C}$ sur un pool de sérums syphilitiques dont une partie témoin a été placée à la température constante de $+37^{\circ}\text{C}$ et l'autre partie témoin à la température constante de -180°C .

Le pool de sérums a été mis en ampoules stérilement, sous le volume de 2 millilitres. Son titre, au temps zéro, était de :

BW Reiter	1/64
BW Kolmer	1/64
Kline	1/16
VDRL	1/16
TIT	1/640
IF-200	1/3200

Le lot soumis aux variations de températures a été plongé pendant 24 heures dans l'azote liquide (-180°C), puis placé les 24 heures suivantes à l'étuve à $+37^{\circ}\text{C}$ et ainsi de suite, sans interruption, pendant 365 jours. Le titre du sérum a été vérifié périodique-

ment, en même temps que celui des deux lots témoins gardés à températures constantes (-180°C et $+37^{\circ}\text{C}$).

Les tableaux 2, 3 et 4 résument les résultats obtenus pour toutes les réactions sérologiques, lipidiques ou tréponémiques effectuées, exprimés quantitativement en unités qui correspondent à l'inverse de la dilution la plus petite du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

La lecture de ces tableaux montre que, à -180°C (température constante), à part une faible diminution des réagines, la conservation des anticorps tréponémiques est parfaite après un an. Au contraire, à $+37^{\circ}\text{C}$ (température constante), on constate une disparition totale des réagines, une très forte diminution des immobilisines, qui passent de 640 unités à 10 unités, et une diminution nette, mais moins importante, des anticorps fluorescents (de 3200 unités à 400 unités).

Enfin, en ce qui concerne le lot soumis aux oscillations quotidiennes de température, la diminution des anticorps semble généralement être moins rapide et moins importante qu'à la température constante de $+37^{\circ}\text{C}$. Ces résultats sont inattendus car on aurait

TABLEAU 5
ÉVOLUTION DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES PENDANT LA CONSERVATION
A -20°C

Durée de conservation (jours)	Titre ^a du lot conservé à -20°C						
	BW Reiter	BW Kolmer	Kline	VDRL	Kahn	TIT	IF
1	512	512	48	32	128	960	6400
2	512	512	48	32	128	960	6400
5	512	512	48	32	128	960	6400
	512	512	48	32	128	960	6400
15	512	512	48	32	128	960	6400
30	512	512	48	32	128	960	6400
50	512	512	48	32	128	960	6400
80	512	512	48	32	128	960	6400

^a Inverse de la plus petite dilution du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

pu penser que des variations aussi fortes entraîneraient des dégradations plus profondes des anticorps qu'une conservation à température constante, même si cette dernière est de +37°C.

Conservation à des températures oscillant quotidiennement entre -20°C et +56°C

Devant ces constatations, nous avons entrepris d'autres essais et nous rapportons les résultats d'une conservation à des températures oscillant entre -20°C et +56°C avec, bien entendu, conservation

de lots témoins correspondants, gardés à ces mêmes températures constantes (tableaux 5, 6 et 7).

L'ensemble de ces résultats confirme que les variations de température sont moins nuisibles à la conservation des anticorps que le maintien constant à une température élevée.

Les titres du pool de sérums gardé à la température constante de -20°C n'ont pas varié après 80 jours (durée de l'essai). Le pool gardé à la température constante de +56°C s'est complètement négativé en sérologie classique après 30 jours et en TIT et IF

TABLEAU 6
ÉVOLUTION DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES PENDANT LA CONSERVATION
A +56°C

Durée de conservation (jours)	Titre ^a du lot conservé à +56°C						
	BW Reiter	BW Kolmer	Kline	VDRL	Kahn	TIT	IF
1	512	512	48	32	128	960	6400
2	256	256	32	16	8	480	6400
5	128	64	8	4	0	320	800
8	32	16	4	2	0	80	800
15	16	8	2	1	0	80	400
30	0	0	0	0	0	10	400
50	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0

^a Inverse de la plus petite dilution du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

TABLEAU 7
ÉVOLUTION DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES PENDANT LA CONSERVATION
ALTERNATIVEMENT A -20°C ET A $+56^{\circ}\text{C}$

Durée de conservation (jours)	Titre ^a du lot placé 24 heures à -20°C et 24 heures à $+56^{\circ}\text{C}$ alternativement						
	BW Reiter	BW Kolmer	Kline	VDRL	Kahn	TIT	IF
1	512	512	48	32	128	960	6400
2	256	128	48	16	4	500	6400
5	128	64	16	8	1	420	3200
8	128	64	8	4	0	280	1600
15	64	32	4	2	0	180	1600
30	32	16	4	2	0	120	1600
50	16	8	2	1	0	30	1600
80	8	0	0	1	0	10	400

^a Inverse de la plus petite dilution du sérum donnant encore une réaction nettement positive.

après 50 jours, alors que le pool soumis aux variations quotidiennes (de $+56^{\circ}\text{C}$ à -20°C) était encore faiblement positif en sérologie classique au 50^e jour (sauf en ce qui concerne le Kahn qui s'est négativé au 8^e jour); après 80 jours, date de l'arrêt de l'essai, le TIT et l'IF étaient encore positifs, mais faiblement (ainsi que le BW Reiter et le VDRL).

Nous avons constaté que le pool de sérums constamment gardé à $+56^{\circ}\text{C}$ commençait à s'épaissir et à se gélifier à partir du 8^e jour, ce qui rend plus difficiles les examens du sérum non dilué. Nous avons donc entrepris un nouvel essai, actuellement en cours, dans lequel la température maximale est de $+50^{\circ}\text{C}$, température à laquelle il ne se produit pas de coagulation.

Discussion et conclusion

A température constante, la conservation des anticorps syphilitiques est parfaite pendant au moins un an à -180°C , tout comme à -20°C et même à $+4^{\circ}\text{C}$. C'est le cas principalement pour les anticorps qui interviennent dans les réactions à antigènes tréponémiques, les réagines (ou anticorps antilipidiques) étant plus labiles, surtout après le 6^e mois.

A la température ambiante et à $+37^{\circ}\text{C}$, la stabilité des anticorps est beaucoup moins bonne mais, là

aussi, on constate une différence très marquée entre les réagines et les anticorps antitreponémiques, ces derniers ne disparaissant pas complètement même après un an de conservation alors que les réactions de sérologie classique (réagines et anticorps anti-Reiter) sont toutes devenues négatives.

A la température de $+56^{\circ}\text{C}$, la dégradation de tous les anticorps est beaucoup plus rapide: entre les 15^e et 30^e jours, la sérologie classique est complètement négative alors que les anticorps tréponémiques sont encore décelables au 30^e jour.

Les deux essais qui comportent des variations quotidiennes de température ont montré que ces oscillations (aussi bien entre -180°C et $+37^{\circ}\text{C}$ qu'entre -20°C et $+56^{\circ}\text{C}$) dégradent moins les anticorps que la conservation constante à $+37^{\circ}\text{C}$ et $+56^{\circ}\text{C}$.

En définitive, il ressort de nos essais que, à condition que les sérums soient stériles, la conservation au froid jusqu'à $+4^{\circ}\text{C}$ permet d'obtenir des résultats sérologiques parfaitement valables, même après un an. Si on compare les diverses réactions, on constate que la réaction d'immunofluorescence est la plus stable puis viennent, en second lieu, le test d'immobilisation et, en dernier, les réactions sérologiques classiques.