

Chapitre 17. « Il ne lui manque qu'un peu de maquillage »

Aux antipodes de l'enquête de Nature

Le protocole rédigé en commun par les deux équipes prévoyait de reproduire tout d'abord les expériences rapportées dans *Nature* avec des hautes dilutions d'antiserum anti-IgE (dilutions au 1/10 de 1/10²¹ à 1/10³⁰). En contrôle, un antiserum anti-IgG, sans effet sur la dégranulation des basophiles, est dilué dans les mêmes conditions.

Une autre série est constituée d'expériences d'inhibition du premier pic de dégranulation par des hautes dilutions d'*Apis mellifica*. On se souvient que des expériences avec ce produit homéopathique avaient initialement été incluses dans le manuscrit destiné à *Nature* puis avaient été finalement publiées dans un autre journal (voir chapitre 4). Les expériences d'inhibition avec *Apis mellifica* faites au cours de la collaboration avec A. Spira comportent 6 dilutions (dilutions au 1/100 de 1/10³⁰ à 1/10⁴⁰) de la solution initiale d'*Apis mellifica* dont l'effet est comparé au solvant de cette solution dilué dans les mêmes conditions.

Les expériences sont réalisées par E. Davenas (ED) et S. Gonnord (SG) d'octobre à décembre 1989. Comme nous l'avons déjà dit, le protocole prévoit de ne retenir pour analyse que les expériences qui remplissent un certain nombre de contrôles de qualité concernant le nombre minimal de basophiles dans les puits contrôles, une dégranulation suffisante du premier pic, une absence de dégranulation spontanée des basophiles. Sur les 45 expériences réalisées pour la première série, 18 sont retenues selon les critères de sélection prédéfinis et sur les 38 expériences réalisées pour la deuxième série en inhibition, 19 sont retenues. Pour les lecteurs qui souhaiteraient mener leur propre analyse, les comptes de basophiles obtenus au cours de cette étude sont donnés en annexe.

L'effet des hautes dilutions est confirmé

Globalement, l'analyse statistique met en évidence que les hautes dilutions d'anti-IgE s'accompagnent de comptes de basophiles plus bas que les hautes dilutions d'anti-IgG. Dit autrement, tout se passe comme si les hautes dilutions d'anti-IgE avaient un effet dégranulant sur les basophiles. On retrouve donc le principal résultat de l'article de *Nature*. C'est donc un résultat essentiel. Comme l'avait dit J. Benveniste, la dégranulation à haute dilution était au rendez-vous, « belle et fidèle ».

Le calcul statistique réalisé en effet par l'équipe de Spira indique que les différences obtenues ne sont pas liées aux simples fluctuations statistiques (pour le lecteur familier des tests statistiques on obtient une valeur de $p < 0,01$). Pour rendre plus parlant ces résultats, nous allons bâtir plusieurs figures.

La figure ci-dessous représente l'ensemble des comptes sous forme de pourcentage de dégranulation avec l'anti-IgE à haute dilution. Le pourcentage de dégranulation associé à chacune des 10 hautes dilutions d'anti-IgE a été calculé par rapport à la moyenne des 10 anti-IgG (contrôles).¹ Rappelons que chacun de ces points a été compté à l'aveugle. Par conséquent, si seul le hasard intervient on devrait obtenir un nuage de points centré sur la ligne horizontale (correspondant à une dégranulation égale à 0%). On constate que le nuage de ED est décalé vers le haut, indiquant que le hasard est « biaisé » vers les valeurs positives. En d'autres termes, tout se passe comme si les hautes dilutions d'anti-IgE (comparées aux hautes dilutions d'anti-IgG) avaient un effet dégranulant sur les basophiles. L'analyse statistique confirme cette observation. C'est un résultat très important. En revanche, pour l'expérimentatrice SG, le nuage reste centré sur la ligne 0 % de dégranulation.

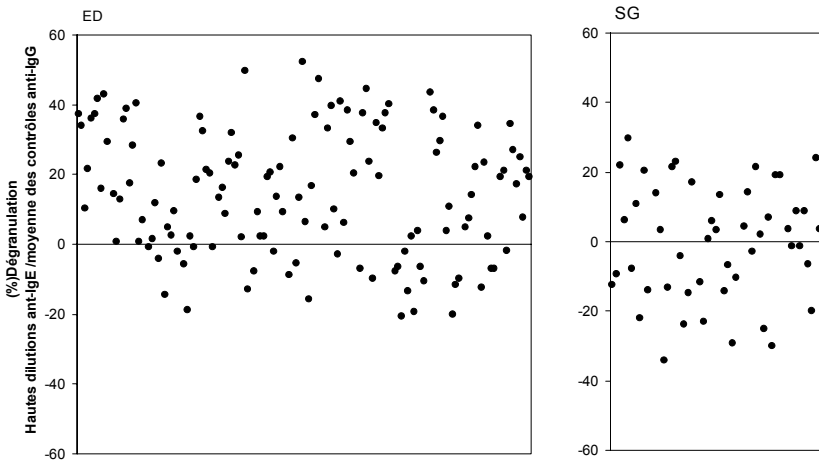


Figure 17.1. Chaque point est le pourcentage de dégranulation des basophiles mesuré en présence des hautes dilutions d'anti-IgE par les deux expérimentatrices ED et SG. Le calcul du pourcentage de dégranulation correspondant à un puit X est fait de la façon suivante : (moyenne des 10 comptes des puits anti-IgG – compte du puits X) / moyenne des 10 comptes des puits anti-IgG. Les valeurs des comptes de basophiles sont données annexe 4.

On peut aussi représenter ces nuages de points de manière plus synthétique en calculant les distributions des pourcentages de dégranulation avec les hautes dilutions d'anti-IgG et avec les hautes dilutions d'anti-IgE (Figure 17.2). Cette façon de représenter les résultats met particulièrement bien en évidence que le « comportement » des basophiles n'est pas le même selon qu'ils ont été en présence de « hautes dilutions d'anti-IgE » ou des contrôles inactifs « hautes dilutions d'anti-IgG ». On peut également séparer les résultats de ED et SG (Figure 17.3).

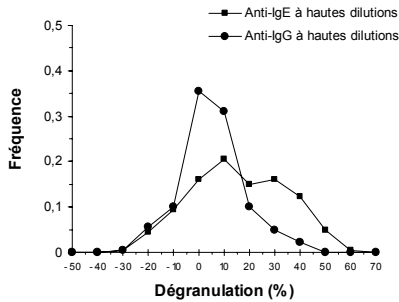


Figure 17.2. Cette figure présente les résultats de l'étude sous forme de distribution des dégranulations obtenues avec l'anti-IgG et l'anti-IgE. Les pourcentages de dégranulation sont calculés comme pour la figure 17.1 en prenant comme contrôles la moyenne des 10 contrôles anti-IgG. On a représenté de plus les pourcentages correspondant aux anti-IgG (dont la moyenne est égale à 0 par définition). On constate que les basophiles qui ont été incubés avec des hautes dilutions d'anti-IgE sont plus bas et sont donc plus fréquemment « dégranulés ». (NB. Sur cette figure et les suivantes, chaque point sur l'axe des abscisses correspond à la borne supérieure de l'intervalle).

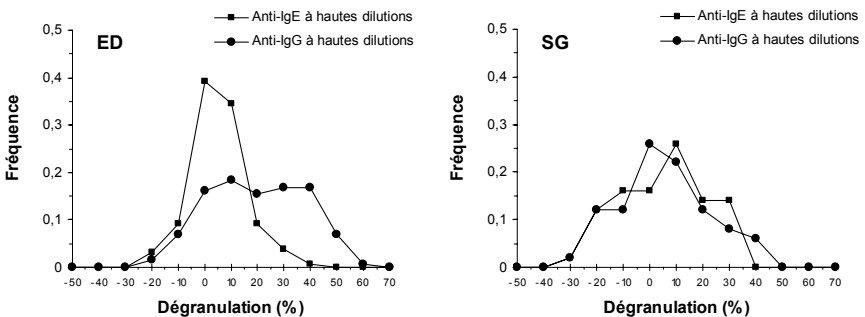


Figure 17.3. Ces deux figures sont construites exactement comme pour la figure 17.2. Simplement les résultats des deux expérimentatrices (ED et SG) sont représentés séparément. On constate que les deux « instruments de mesure » n'ont pas les mêmes « performances ». En particulier la dispersion importante des hautes dilutions contrôles d'anti-IgG sur la figure de droite suggèrent qu'il sera plus difficile de « sortir un signal » avec SG.

Les deux expérimentatrices obtiennent donc des résultats très différents. Ce qui frappe chez SG est la large dispersion des résultats avec les contrôles anti-IgG. Manifestement nous avons affaire à deux « instruments de mesure » avec des « performances » très différentes. Il est possible que la détection de la perte d'affinité des basophiles pour le colorant demande une bonne vision (ou une certaine vision) des couleurs. L'habileté manuelle ou même comme on le voit ici l'acuité sensorielle de l'expérimentateur pourrait être cruciale. Ce ne sont ici que des hypothèses. Toutefois s'il s'agissait d'instruments de physique, ceci nous paraîtrait évident. Ces résultats illustrent les difficultés de parvenir à une bonne reproductibilité de certaines expériences en biologie, parfois même, comme ici, au sein du même laboratoire.

J. Benveniste mettra ces différences de résultats sur le compte de la différence d'expérience des deux expérimentatrices.²

Mais où sont les « sinusoides » d'antan ?

La présentation ci-dessus des résultats ne prend toutefois pas en compte le rang de la dilution, seul a été considéré le caractère « haute dilution d'anti-IgE » ou « haute dilution d'anti-IgG ». On peut également représenter les pourcentages de dégranulation des dilutions d'anti-IgE en tenant compte du rang de la dilution de $1/10^{21}$ à $1/10^{30}$. Nous avons représenté sur la Figure 17.4 les 18 expériences.

Ce qui frappe est l'aspect chaotique des résultats. On est très loin des courbes régulières que l'on connaissait et qui avaient tant intrigué. Comme l'avait remarqué J. Benveniste : « Il ne lui manque qu'un peu de maquillage ». Néanmoins, comme nous l'avons vu plus haut, les points sont plus souvent au dessus de la ligne 0% (chez ED) que le seul hasard ne le permet.

Les expériences d'inhibition avec Apis mellifica

Examinons maintenant les résultats réalisés avec le produit homéopathique *Apis mellifica*. Nous avons représenté l'effet de ce produit en pourcentage d'inhibition de la dégranulation (Figure 17.5). Ici également, si le hasard seul était à l'œuvre on devrait avoir une répartition égale autour de la ligne 0 % d'inhibition. On constate ici encore les meilleures performances de ED comparée à SG. Cette dernière obtient tout de même un effet inhibiteur du produit homéopathique mais moins marqué que chez sa collègue.

Nous avons également représenté la distribution de ces points sur la Figure 17.6 (les résultats de ED et SG ne sont pas séparés). On constate comme prévu que, globalement, les hautes dilutions d'*Apis Mellifica* ont un effet inhibiteur.

Chapitre 17. « Il ne lui manque qu'un peu de maquillage »

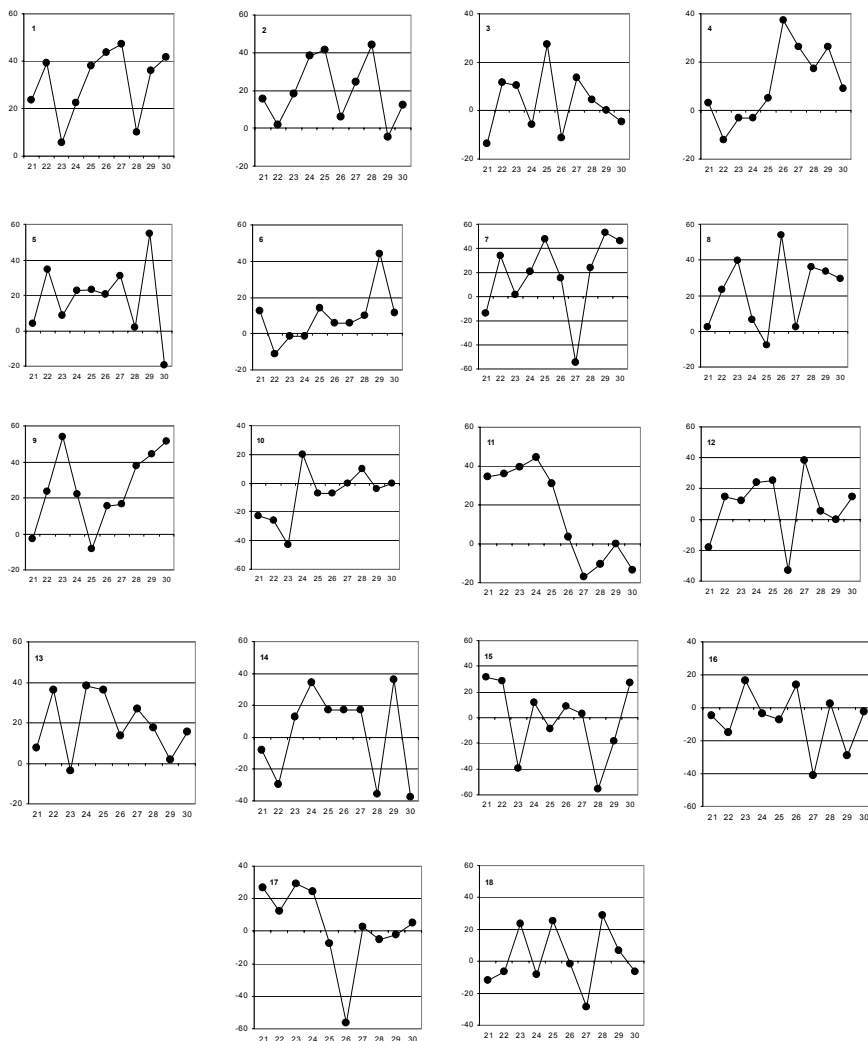


Figure 17.4. Chacune des 18 expériences est représentée sur cette figure (n°1 à 13 pour ED et n°14 à 18 pour SG). Les quelques tracés réguliers (figure en haut à gauche par exemple) que l'on observe pour certaines expériences paraissent relever plus du hasard que d'une véritable « dose-réponse ». En effet, c'est une impression de chaos qui prédomine et on n'observe plus les « sinusôides » ou « vagues » régulières qui avaient tant intrigué. Pourtant, globalement, il existe un effet statistiquement significatif. Pour dire les choses de façon simple, les points sont plus souvent au dessus de la ligne des abscisses à 0% de dégranulation (dans environ 2 cas sur 3 pour les 18 expériences) que ne le voudrait le hasard (si le hasard seul gouvernait ces résultats on devrait en avoir autant de chaque côté de cette ligne).

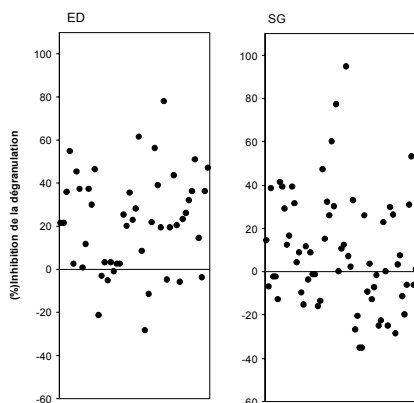


Figure 17.5. Chaque point est le pourcentage d'inhibition de la dégranulation des basophiles par *Apis mellifica* mesuré par les deux expérimentatrices ED et SG.

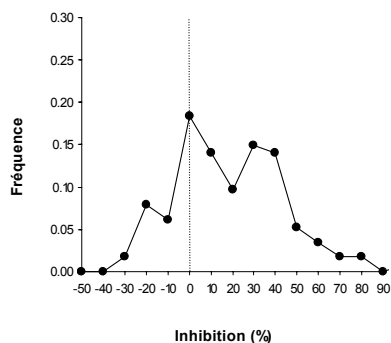


Figure 17.6. Cette figure résume les résultats d'inhibition de la dégranulation par *Apis mellifica* sous forme de distribution de l'ensemble des valeurs expérimentales d'inhibition de la dégranulation. On constate que les pourcentages de dégranulation sont « déplacés » à droite de l'abscisse 0% indiquant un effet global inhibiteur. Si globalement il n'y avait pas d'inhibition (hypothèse nulle), la courbe de distribution devrait être centrée sur 0% d'inhibition. Les comptes de basophiles sont donnés en annexe 4. (Chaque point sur l'axe des abscisses correspond à la borne supérieure de l'intervalle).

A. Spira et ses collaborateurs analyseront les résultats dilution par dilution et trouveront un effet statistiquement significatif (de $p < 0,05$ à $p < 0,01$) pour les dilutions $1/10^{30}$, $1/10^{32}$, $1/10^{34}$ et $1/10^{40}$. On peut représenter le profil d'inhibition en fonction des dilutions d'*Apis Mellifica* de la façon suivante (Figure 17.7).

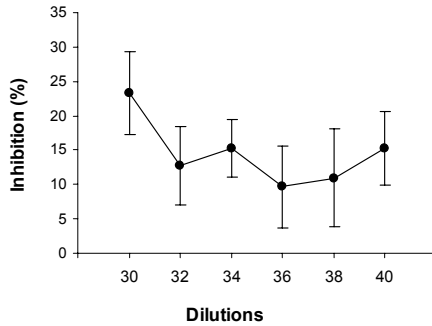


Figure 17.7. Il s'agit d'une autre représentation des résultats avec *Apis mellifica* où l'effet inhibiteur est représenté pour chacune des dilutions de ce produit. Chaque point est la moyenne \pm S.E. des 19 expériences d'inhibition de la dégranulation avec *Apis mellifica*. Si l'effet était du au hasard, on devrait trouver les points de part et d'autre de la ligne horizontale correspondant à 0% d'inhibition.

On peut comme ci-dessus distinguer les résultats des deux expérimentatrices. Si on considère les résultats de ED qui trouve globalement une inhibition plus importante, les 6 dilutions donnent des résultats qui statistiquement ne sont pas différents entre eux (Figure 17.8).

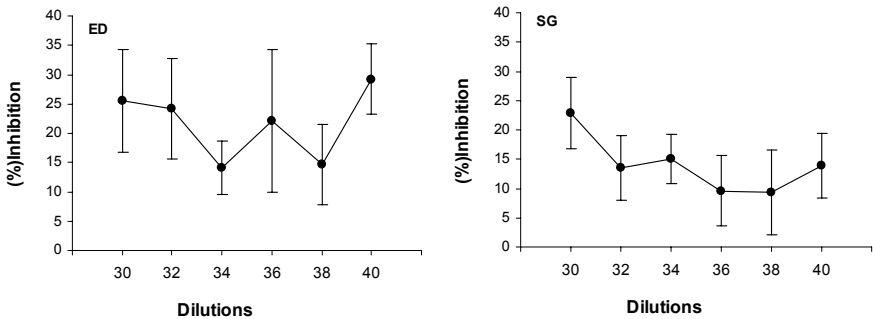


Figure 17.8. Ces figures correspondent aux mêmes résultats que ceux de la figure 17.7. Simplement, on a distingué les résultats de ED de ceux de SG. Il est difficile de conclure à une plus grande efficacité de telle ou telle dilution, même si globalement l'inhibition est statistiquement significative.

Et la loi de Poisson ?

Comme dans le chapitre 12, nous allons étudier la distribution du rapport variance/moyenne sur les 10 contrôles anti-IgG de chacune des 18 expériences de la première série d'expériences

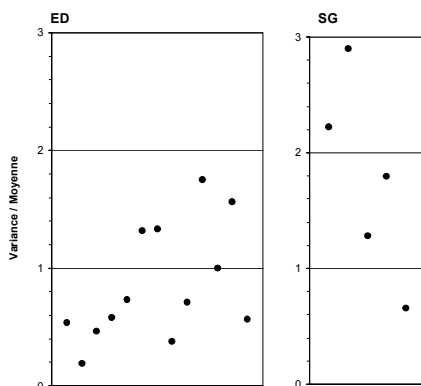


Figure 17.8. La répartition du rapport variance/moyenne des contrôles (anti-IgG à hautes dilutions) de l'expérimentation en activation « directe » par anti-IgE est représentée sur cette figure. Chaque point est le rapport de la variance des 10 contrôles anti-IgG divisée par leur moyenne. Pour l'expérimentatrice ED, on constate que la variance est plus fréquemment inférieure à la moyenne (variance/moyenne < 1). Voir le chapitre 12 pour des explications concernant l'intérêt de cette représentation.

On constate donc que sur les 13 expériences réalisées par ED, 9 ont une variance qui est inférieure à la moyenne. Sur les 5 expériences de SG, 4 ont une variance qui est supérieure à la moyenne et deux ont une variance qui est supérieure à 2 fois la moyenne. Ainsi, avec l'expérimentatrice « performante » ED, on retrouve cette notion de faible variabilité (ici pour 69% des comptes). Rappelons toutefois qu'avec un échantillonnage de $n=10$ on s'attend à ce que 56% des variances soient inférieures à la moyenne correspondante (cf. chapitre 12). Ces résultats ne sont donc pas incompatibles avec la loi de Poisson (si l'on ne tient pas compte d'un éventuel bruit statistique surajouté).

Dans la conclusion, les auteurs évoquent cette question de la conformité des résultats à la loi de Poisson :

« En effet, la variabilité pour chacune des 18 expériences, du nombre de basophiles comptés pour les dilutions 21 à 30 d'anti-IgG, a montré que dans 15 cas le test était compatible avec une loi de Poisson ; dans 2 cas la variance était supérieure à une variance poissonnienne et dans 1 cas elle était inférieure. »

Cette précision qui insiste sur la compatibilité avec la loi de Poisson, diffère quelque peu de la déclaration – à chaud – d'A. Spira citée à la fin du chapitre précédent (« C'est surprenant, inhabituel ») lorsque les premières analyses étaient réalisées.

Une conséquence de la collaboration avec A. Spira

C'est fin décembre 1989 qu'est annoncée la décision de P. Lazar de maintenir J. Benveniste dans ses fonctions de directeur de l'Inserm U200 et ce jusqu'au 30 juin 1992.

Selon *Le Monde* :

« Cette décision, qui s'inscrit dans le contexte de l'affaire dite de "la mémoire de l'eau", met donc un terme à l'espèce de mise à l'épreuve imposée en juillet dernier au docteur Benveniste par M. Lazar (*Le Monde* du 8 et du 12 juillet 1989). Ce dernier avait alors recommandé au docteur Benveniste d'adopter une "ligne de conduite" supposant en particulier qu'il renonce, pour un temps, à s'exprimer sur les effets des hautes dilutions en dehors des revues scientifiques de haut niveau de manière, disait M. Lazar, qu'il reconstitue un capital de confiance "en grande partie dissipé" aux yeux de ses collègues.

Outre que le docteur Benveniste s'est effectivement abstenu depuis juillet dernier de faire des déclarations dans les médias, la décision du directeur général de l'INSERM pourrait également être motivée par le fait que les résultats de la "contre-expertise" menée conjointement depuis plusieurs mois par les docteurs Benveniste et Alfred Spira (directeur de l'unité 292 de l'INSERM) confirment pour l'instant les données publiées le 30 juin 1988 dans la revue *Nature* sur les effets moléculaires sans molécule. »³

Il reste maintenant un obstacle important à franchir : porter ces résultats à la connaissance de la communauté scientifique.

Notes de fin de chapitre

¹ On pourrait également calculer pour chaque haute dilution d'anti-IgE la dégranulation par rapport à l'anti-IgG à la même dilution correspondante. On obtient des résultats voisins qui ne changent rien à la démonstration.

² Dans les premières versions du manuscrit les initiales des expérimentatrices étaient indiquées. Dans la version publiée dans les *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* (cf. chapitre 19), il n'en est plus fait mention. La différence des résultats entre SG et ED est ainsi expliquée dans la version du manuscrit du 6 mars 1990 : « Ces différences de performances peuvent probablement être attribuées à la plus longue expérience de manipulation et de comptage des basophiles de E.D. (cinq ans) comparée à celle de S.G., une nouvelle venue dans ce domaine (6 mois à temps partiel). »

³ F. Nouchi. Une décision du directeur général de l'INSERM. Le docteur Benveniste est maintenu dans ses fonctions jusqu'en 1992. *Le Monde*, 3 janvier 1990.