

Chapitre 15. « L'explication est très simple »

A la différence des controverses scientifiques célèbres de l'histoire des sciences, « l'affaire Benveniste » comme nous l'avons déjà fait remarquer ne parvint pas à dépasser le stade de la polémique. Il ne pouvait en effet y avoir de controverse car, comme le martela J. Maddox, il n'y avait pas de fait ! Le directeur de *Nature* exprima cette idée très explicitement dans le dernier paragraphe de conclusion du texte destiné à clore le « débat » dans les colonnes de sa revue :

« Alors quelle est la vérité sur les affirmations de l'Inserm U200 à propos des hautes dilutions d'anti-IgE ? Un correspondant nous a reproché d'avoir empêché la découverte de la véritable explication. Ma propre conviction est qu'il reste à démontrer qu'il y a un phénomène à expliquer. »¹

Pourquoi donc rechercher un artefact puisque le fait initial dont on discute *n'existe pas* et ceci pour la simple raison *qu'il ne peut exister*. On a vu que tout le rapport d'enquête de *Nature* tente de démontrer l'inexistence d'un effet à haute dilution qu'il s'efforce d'assimiler à une simple fluctuation statistique du bruit de fond. Il est cependant plaisant de constater qu'à la suite de ce rapport, *Nature* publia pendant de nombreuses semaines des lettres de lecteurs se proposant d'expliquer quel était l'artefact responsable de l'effet observé !

Examinons donc les différentes suggestions d'artefacts qui sont alors proposées. La plupart proviennent du courrier abondant qui est adressé à la revue au cours des dix semaines qui suivent la publication du rapport d'enquête.² Le lecteur pourra constater que certaines des explications alternatives proposées sont souvent plus improbables et plus échevelées que l'hypothèse d'une « mémoire de l'eau ». Une autre caractéristique de ces propositions réside dans le fait qu'elles sont toujours énoncées sur le mode « si l'on suppose que... alors il est possible qu'en fait... ». Toutefois l'auteur de chacune de ces propositions en reste toujours à cette « expérience de pensée » et il n'est jamais fait appel – à une exception près – à l'expérimentation. Nous espérons néanmoins qu'à la lecture de certaines des hypothèses proposées, le lecteur aura parfois le plaisir de ressentir les préliminaires du frisson de la controverse scientifique.

Le bouchon de molécules

Cette hypothèse est proposée par J. Ninio, chercheur au CNRS, qui pendant l'été 1988 tente de la populariser auprès des rédactions de différents journaux

parisiens. Selon ce chercheur, les molécules d'anti-IgE, à partir d'une certaine dilution, restent à la surface de l'eau et sont ainsi transportées d'un tube à l'autre. Le résultat est que l'on pense diluer mais en fait on ne fait que transporter de l'anti-IgE d'un tube à l'autre. Pour exprimer sa pensée, il procède à l'analogie suivante :

« Débouchez une vieille bouteille de vin. Versez-en un peu, par un entonnoir, dans une autre bouteille. Complétez par un litre d'eau. Vous aurez effectivement dilué le vin.... Mais pas la poussière de bouchon qui était en surface, et s'est donc transférée presque intégralement d'une bouteille à l'autre. »³

Une analogie reste toutefois une analogie et par quelles expériences ce chercheur démontre-t-il que les molécules d'anti-IgE se comportent effectivement de cette façon ? Aucune. Il propose néanmoins un test pour évaluer son hypothèse :

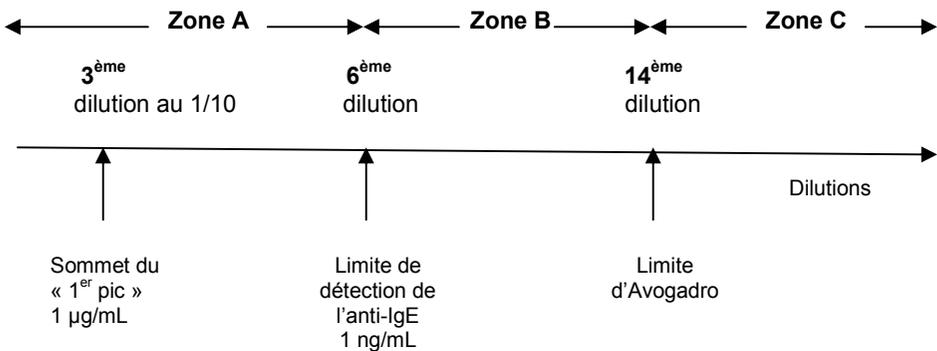
« Reprenons notre bouteille de vin. Versons à boire dans deux coupes : les débris de bouchon se retrouvent dans la première, laquelle n'a donc pas le même contenu que la seconde. Dans les expériences de M. Benveniste, les dilutions sont faites par pipetage manuel, et je suppose qu'on utilise exclusivement le premier pipetage. Nulle part il est fait mention de ce qui se produit si on écarte systématiquement le premier pipetage et qu'on utilise les suivants. »⁴

De façon plus simple, l'idée de J. Ninio revient à dire que l'anti-IgE est transporté d'un tube à l'autre en ne respectant pas la décroissance supposée (en particulier lorsque la concentration d'anti-IgE est faible). La conséquence en est la contamination de l'ensemble des tubes de la série des dilutions. Les tubes supposés ne contenir que de « l'eau organisée » seraient en fait contaminés à l'insu de l'expérimentateur par des molécules d'anti-IgE tout à fait classiques.

Si on suit ce raisonnement, comment toutefois expliquer que les hauteurs des pics de l'activité dégranulante sont similaires sur l'ensemble de la série de dilutions ? En effet, on s'attendrait à ce que l'anti-IgE, s'épuise néanmoins progressivement de tube en tube, ce qui n'est pas le cas. De plus l'analogie avec la bouteille de vin semble suggérer que les molécules d'anti-IgE sont transportées toutes ensemble (la « poussière de bouchon » passe d'un tube à l'autre). Dans ce cas, l'ensemble des molécules d'anti-IgE se retrouverait dans la dernière dilution. Pourtant une activité est également présente dans les tubes qui la précèdent.

Mais, peut objecter le lecteur qui sent monter en lui la fièvre de la controverse, il est possible que des traces minimales d'anti-IgE soient effectivement transportées tout au long de la série de dilution et que ces traces soient suffisantes pour provoquer la dégranulation. On ne peut jamais exclure une contamination infinitésimale.

Certes, mais il ne suffit pas que soient détectées des traces d'anti-IgE, encore faut-il qu'elles soient présentes à une *concentration suffisante*. Voici un schéma où différents repères ont été placés sur la série des dilutions d'anti-IgE :



Les repères indiqués sur cette échelle permettent de définir 3 zones :

- La zone A est la zone « classique » (jusqu'à la 6^{ème} dilution). C'est la zone du « premier pic ». Quelle que soit la méthode de dilution (avec ou sans agitation), l'effet biologique obtenu est identique et les dilutions de l'anticorps respectent la décroissance de 10 en 10.

- La zone B est une zone intermédiaire (de la 6^{ème} à la 14^{ème} dilution) où il y a encore des molécules d'anti-IgE mais où on ne peut plus les détecter et où l'anti-IgE n'a plus d'activité (sauf si les dilutions sont agitées).

- La zone C est la zone où il n'y a plus de molécules d'anti-IgE.

L'examen de cette échelle permet de répondre à l'argument concernant les éventuelles traces d'anti-IgE « efficaces ». En effet, si on constate un pic de dégranulation avec une hauteur de l'ordre de 30–40%, alors – si c'est bien l'anti-IgE qui est responsable de cette activité – la présence de molécules d'anti-IgE devrait être détectée par la méthode de dosage. Le seuil de détection de cette dernière est en effet de l'ordre de 1 ng/mL. A cette concentration (correspondant à la 6^{ème} dilution au 1/10 de l'antisérum de départ), il n'y a classiquement plus d'activité dégranulante.

Par conséquent peut-on rétorquer, il est possible que la solution au problème des prétendues « hautes dilutions » réside dans la zone B. Dans cette zone, les molécules d'anti-IgE sont présentes, mais en très faibles quantités donc indétectables. Le fait de les agiter les rendrait – pour une raison qui reste à découvrir – beaucoup plus efficaces. Nous concluons donc en suivant cette logique qu'il est tout à fait possible que des traces d'anticorps dues à une infime contamination, indétectables par les méthodes classiques, soient néanmoins actives ! Inutile de faire appel à une quelconque « mémoire » pour rendre compte de ces résultats.

Eh bien ce serait effectivement la fin de la « mémoire de l'eau » avec l'avènement d'une très grande découverte ! Car cela signifierait que l'on peut transformer des traces d'anticorps en « super anticorps » ayant les mêmes propriétés que les anticorps monoclonaux que l'industrie pharmaceutique fabrique à grand frais. Il suffirait en effet de diluer à l'état de trace des anticorps en les agitant violemment pendant un temps suffisant (une quinzaine de secondes). Et si cette explication s'appliquait aux autres molécules, c'est toute l'industrie pharmaceutique qui tremblerait !

Faisons un rêve. Imaginons que cette explication soit la bonne. Dans ce cas, *exit* la « mémoire de l'eau ». Il n'en resterait pas moins qu'il méritait que les observations initiales de J. Benveniste aient été portées à la connaissance de tous les scientifiques. Grâce à cette controverse, une découverte importante aurait été faite. Quitter l'Europe pour tracer une nouvelle route des Indes et découvrir l'Amérique est un cheminement qui est fréquent dans l'histoire des sciences et qui ne mérite pas l'opprobre. Au contraire. Mais pour que ce processus puisse éventuellement s'opérer, il importe de « décriminaliser l'erreur » et de ne pas ostraciser celui qui observe un fait mais n'a pas su ou pu – dans un premier temps – l'interpréter correctement.

A ma connaissance, aucun brevet n'a été déposé et aucune application industrielle n'a été développée s'appuyant sur cette idée pourtant riche d'applications si elle était vraie. Un faisceau d'arguments – cités dans l'article de *Nature* de juin 1988 – apportent toutefois des arguments qui vont à l'encontre de l'hypothèse des « traces indétectables efficaces » : le chauffage à 70°C, l'action des ultrasons et les cycles de congélation-décongélation détruisaient l'efficacité des hautes dilutions ; en revanche les hautes dilutions actives n'étaient pas modifiées après passage à travers un filtre moléculaire bloquant les molécules d'anti-IgE mais pas les molécules d'eau. Pris dans leur ensemble, ces résultats suggèrent donc que les effets observés ne possédaient pas les propriétés que des molécules – même à l'état de traces – auraient dû posséder.

Les molécules qui collent au tube (et se décollent...)

Fin 1991, Pierre-Gilles de Gennes vient tout juste de recevoir le prix Nobel de physique. J. Benveniste – dont un proche se trouve dans l'entourage professionnel du physicien – lui demande alors conseil par lettre. Dans une très brève réponse, P.G. de Gennes évoque un artefact possible pour les hautes dilutions en ces termes :

« Je me demande tout de même si l'adsorption des protéines à la paroi eau/verre ne bouleverse pas les concentrations nominales affichées (notez aussi que cette adsorption est souvent réversible aux grandes dilutions). »⁵

P.-G. de Gennes décide toutefois d'interrompre là ces brefs échanges malgré plusieurs relances de J. Benveniste qui aimerait bénéficier des connaissances du prix Nobel sur la « matière molle ».

L'idée que les molécules d'anti-IgE pourraient adhérer aux parois du tube – et par conséquent fausser les rapports de dilution – est également évoquée par des physiciens interrogés par le journaliste M. de Pracontal. Ces derniers évoquent la possibilité pour les molécules d'anti-IgE d'adhérer aux parois du tube : « [...] à partir de la cinquième ou sixième dilution, une fraction importante des molécules peut rester adsorbée sur les parois du tube ou à la surface du liquide. »⁶

Cette « explication » de l'artefact éventuel par une adsorption sur la paroi des tubes ne paraît guère logique. En effet si les molécules collent aux parois, alors la décroissance des concentrations devrait se faire *plus rapidement* que ce qui est attendu. Par conséquent on devrait dépasser plus rapidement la limite d'Avogadro.

Paradoxalement, cette explication apporte plutôt des arguments en faveur d'une absence de molécules dans les hautes dilutions puisque les tubes à essai qui servent à faire les dilutions contribueraient à éliminer les éventuelles molécules d'anti-IgE contaminantes. Rappelons en effet que le tube à essai (avec les éventuels anticorps anti-IgE collés sur ses parois interne) n'est pas en contact avec les cellules. Il est tout simplement jeté une fois qu'une fraction de son contenu a été prélevée à la pipette.

La mémoire de l'héparine

Était-ce un canular ? Même si l'auteur de cette correspondance à *Nature* n'exprime pas sa proposition d'artefact sous la forme d'une « mémoire de l'héparine », la lecture de ses explications laisse une impression curieuse. En

effet, J. Leslie Glick de la société *Bionix Corporation* aux USA note que le milieu physiologique utilisé dans l'article de *Nature* contient de l'héparine. Or, explique-t-il, l'héparine est capable de se fixer sur de nombreuses structures moléculaires et de former des agrégats stabilisés par l'eau et l'environnement ionique :

« Je propose que l'anticorps anti-IgE (ou n'importe quel autre agent cité dans l'article capable de faire dégranuler les basophiles) pourrait servir de modèle pour l'héparine en provoquant une conformation spécifique de la molécule d'héparine. [...] Au cours des dilutions avec la solution tamponnée contenant de l'héparine, la conformation stabilisée d'héparine, bien que dénuée d'activité biologique, servirait elle-même de moule et serait responsable d'une nouvelle conformation de l'héparine qui mimerait alors la structure tridimensionnelle du site de fixation antigénique de l'anticorps anti-IgE (ou de tout autre stimulus immunologique). »⁷

L'héparine serait en somme une sorte de « photocopieuse » pour molécules biologiques. Ici encore l'industrie pharmaceutique peut craindre pour son avenir. Pourtant nul brevet ou publication n'a cherché à exploiter cette admirable « découverte ». Son auteur y croyait-il vraiment ?

Si on fait néanmoins le pari que cette proposition d'artefact a été émise sérieusement, on peut répondre à cet « argument » que les expériences à hautes dilutions ont été réalisées avec d'autres milieux physiologiques qui ne contenaient pas d'héparine sans modifier le résultat.

L'agent masqué

Pour M.J. Escibano du CNRS, il pourrait exister une « explication très simple » au phénomène rapporté.⁸ Il suffit de supposer qu'il existerait une molécule ayant des propriétés dégranulantes qui serait fixée à l'un des composants du milieu physiologique, par exemple à l'albumine. L'agitation libérerait cette molécule et une activité dégranulante serait constatée et attribuée à tort à la haute dilution d'anticorps.

La réplique à cet argument est encore plus simple que « l'explication très simple » : il n'y a pas d'effet avec les solutions contrôles pourtant agitées de façon identique.

L'agent masqué (bis)

Il s'agit d'une version nettement plus sophistiquée de la version précédente avec un « agent masqué » qui, cette fois, serait présent dans la paroi du tube. Voici en effet ce que propose A. Danchin de l'Institut Pasteur :

« Puisqu'il est bien connu que les anticorps interagissent fortement (souvent spécifiquement) avec les surfaces, il est possible qu'ils extraient un ion (ou une molécule contaminante) qui à son tour agirait comme déclencheur d'une nouvelle extraction (en absence de l'anticorps). Ceci permettrait de comprendre la nécessité d'une forte agitation. »⁹

On ne peut faire grief au partisan de ce possible artefact de reculer devant le nombre d'hypothèses *ad hoc*. Tout d'abord, il faut supposer que des anticorps anti-IgE sont capables d'extraire de la paroi du tube « quelque chose », mais qu'en revanche les anti-IgG ne sont pas capables de faire de même (ce qui en soi serait particulièrement intéressant), que ce « quelque chose » aurait des propriétés dégranulantes (directes ou indirectes) et qu'il serait capable de s'auto-extraire de la paroi. Il faut également ajouter – et c'est la dernière condition – qu'il faut supposer que l'agitation seule ne pourrait extraire ce « quelque chose » si ce dernier (ou l'anti-IgE) n'était pas déjà présent dans la solution.

L'explication étant ainsi « blindée » de toute part, la seule réponse possible est que les expériences à hautes dilutions ont été réalisées avec différents types de matériels (tubes en polypropylène, polyéthylène, verre) et avec différentes molécules (antisérums anti-IgE, antigènes, peptides dégranulants, ionophores, histamine, phospholipase A2, etc.). On peut certes également imaginer une hypothèse spécifique pour chacune de ces différentes substances biologiques et types de matériels en calquant le raisonnement sur la démarche ci-dessus. Mais est-ce encore de la science ?

Les aérosols contaminants

Ici également une contamination est invoquée par I. Lasters et M. Bardiaux¹⁰ de la société *Plant Genetic Systems* à Bruxelles. Mais la contamination aurait lieu selon ces derniers non pas au moment de la réalisation des dilutions mais lorsque les hautes dilutions sont mises au contact des cellules. Cette contamination se produirait de proche en proche, d'un puits à l'autre.

La meilleure réponse est la mise en avant des expériences à l'aveugle où des puits « actifs » et « inactifs » étaient présents sur une même plaque de culture cellulaire.

Les fragments d'anticorps

Pour R.M. Schilling, les résultats des expériences à hautes dilutions peuvent « s'expliquer facilement »¹¹. L'agitation serait responsable de la formation de fragments d'anticorps. Pour résumer la pensée de ce lecteur, on croit utiliser des

molécules d'anti-IgE et en fait ce sont des fragments – certains gardant des propriétés dégranulantes – qui sont transportés au cours des dilutions.

Toutefois, même pour des fragments, la limite d'Avogadro s'applique et les dilutions en série finissent par épuiser le stock des éventuels fragments.

Les radicaux libres

K.S. Suslick de l'Université de l'Illinois propose que l'agitation du liquide provoque localement des bulles de cavitation et des températures élevées. Il en résulterait des réactions chimiques dont les conséquences seraient les suivantes :

« Nous suggérons que la dégranulation observée par Benveniste et ses collègues est un artefact lié aux dégâts cellulaires causés par réaction avec de petites quantités de OH° , H° , H_2O_2 , HO_2 , etc., produits par les turbulences du vortex. »¹²

La réponse la plus simple est, ici encore, que les contrôles préparés de façon similaire ne provoquent pas de dégranulation.

Les autoanticorps anti-IgE

Le chercheur anglais F. Shakib¹³ fait remarquer qu'il y a une source d'anticorps anti-IgE dont il n'a pas été tenu compte. Il s'agit des autoanticorps anti-IgE, présents en quantités variables selon les individus. Ces anticorps fixés sur les IgE des basophiles pourraient être responsables d'une dégranulation « spontanée » des basophiles.

Ici également, si cette hypothèse était correcte, on devrait aussi constater ce phénomène avec les contrôles.

L'oxydation du bleu de toluidine.

La seule hypothèse pour laquelle l'auteur fit l'effort non seulement de réaliser une expérience mais également de publier son hypothèse d'artefact est due à Jean Jacques, chimiste, chercheur au CNRS. Nous reviendrons longuement dans le chapitre 19 sur cet article publié en 1990, car ce chercheur en écrivant cet article apporta une aide – bien involontaire – à J. Benveniste. On verra comment à cette occasion fut refusé à J. Benveniste ce qui aurait pu constituer un début de controverse constructive.

Notes de fin de chapitre

- ¹ J. Maddox. Waves caused by extreme dilution. *Nature*, 27 octobre 1998, p. 760.
- ² *Nature* du 28 juillet, 4, 18 et 25 août, 8, 15, 22 et 29 septembre, 13 et 20 octobre 1988.
- ³ M. de Pracontal. Les mystères de la mémoire de l'eau, p. 93.
- ⁴ *Ibid.*, p. 97.
- ⁵ Lettre de P.G. de Gennes à J. Benveniste du 31 octobre 1991.
- ⁶ M. de Pracontal. Les mystères de la mémoire de l'eau, p. 96.
- ⁷ J. Leslie Glick. *Nature*, 4 août 1988, p. 376.
- ⁸ M.J. Escribano *Nature*, 4 août 1988, p. 376.
- ⁹ A. Danchin. *Nature*, 28 juillet 1988, p. 286.
- ¹⁰ I. Lasters et M. Bardiaux. *Nature*, 28 juillet 1988, p. 285.
- ¹¹ R.M. Schilling. *Nature*, 13 octobre 1988, p. 584.
- ¹² K.S. Suslick. *Nature*, 4 août 1988, p. 375.
- ¹³ F. Shakib. *Nature*, 20 octobre 1988, p. 664.