

Chapitre 23. « Du Benveniste sans Benveniste » ?

Si « neuf grossesses de un mois ne font pas un bébé », la publication des résultats de l'étude impulsée par les laboratoires Boiron et coordonnée par M. Roberfroid fut – quelles qu'en furent les raisons – longue à accoucher !

L'annonce en 1994

On relève en effet une première allusion à cette étude par l'un des participants, F. Wiegant. Ce dernier, en août 1994, adresse une correspondance¹ à *Nature* concernant l'article de Hirst *et al* évoqué précédemment. Cette lettre est intéressante car l'enchaînement des idées qu'elle contient révèle explicitement la stratégie de se démarquer à tout prix de J. Benveniste et de ses résultats.

Premier temps : F. Wiegant fait part tout d'abord de son accord avec la conclusion de Hirst *et al* et il indique que son groupe de recherche a publié deux ans auparavant les mêmes résultats négatifs. Cette équipe avait alors constaté des divergences dans les comptes de basophiles des deux expérimentateurs. Il ajoute que ce fait pourrait expliquer l'absence de mise en évidence de résultats quant à l'effet des hautes dilutions.²

Deuxième temps : F. Wiegant précise ensuite que l'un des signataires de l'article de *Nature* de 1988, J. Sainte-Laudy, a modifié la méthode initiale de dégranulation des basophiles et utilise maintenant le bleu alcian « qui permet de compter les basophiles rapidement et précisément ».

Troisième temps : F. Wiegant signale qu'avec cette méthode modifiée, J. Sainte-Laudy a retrouvé les résultats publiés antérieurement concernant l'effet inhibiteur de l'histamine à hautes dilutions sur la dégranulation des basophiles.

Quatrième temps : F. Wiegant annonce que des expériences en double aveugle utilisant ce modèle sont en cours dans cinq laboratoires aux Etats-Unis, en Irlande, en Italie, en France et aux Pays-Bas. Ces expériences sont coordonnées par Marcel Roberfroid de l'Université de Louvain en Belgique.

Il conclut alors : « le dernier mot n'a pas encore été prononcé. ». Rappelons que nous sommes alors en 1994. Mais, il faudra attendre... 2004 pour voir ces résultats publiés dans le journal *Inflammation Research*³ !

Les résultats dévoilés en 2004

Les signataires de l'article⁴ de 2004 sont issus de quatre laboratoires (il n'est plus question du laboratoire américain). Il y a tout d'abord les deux anciens signataires de l'article de *Nature* de 1988, P. Belon, directeur scientifique de Boiron et J. Sainte-Laudy (CERBA, France) ainsi que Fred Wiegant (Université d'Utrecht, Pays-Bas) et deux autres chercheurs qui n'avaient pas été impliqués dans cette recherche auparavant : Madeleine Ennis (*Queen's University* de Belfast, Royaume-Uni) et Pier Francesco Mannaioni (Université de Florence, Italie). L'étude est coordonnée par M. Roberfroid, professeur de biochimie qui a également codé les dilutions à tester. Les résultats sont analysés par Jean Cumps, statisticien (Université Catholique de Louvain, Belgique). Les laboratoires ayant réalisé les tests de dégranulation sont les laboratoires français (laboratoire 1), néerlandais (laboratoire 2), anglais (laboratoire 3) et italien (laboratoire 4).

L'histamine à hautes dilutions a été testée à 10^{-30} , 10^{-32} , 10^{-34} , 10^{-36} , 10^{-38} mol/L (il s'agit bien entendu de concentrations dites « théoriques »). Le test a eu lieu sur trois concentrations d'anti-IgE correspondant au premier pic (1 ; 0,2 et 0,04 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Globalement – et c'est un point remarquable – l'analyse statistique montre que les pourcentages de dégranulation sont plus faibles pour les échantillons qui contiennent de l'histamine à hautes dilutions. La figure 23.1 est une représentation synthétique du résultat global obtenu. On constate que, pris dans leur ensemble, les pourcentages d'inhibition ont plus fréquemment des valeurs positives que ne le voudrait le hasard. Les tests statistiques indiquent un degré de significativité très élevé ($p < 0,0001$).

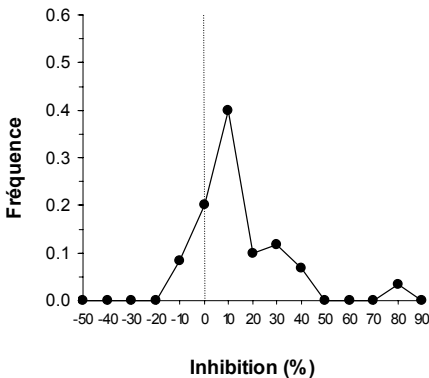


Figure 23.1. Cette figure présente les résultats globaux d'inhibition par l'histamine dans l'étude européenne. La figure a été réalisée à partir des moyennes rapportées dans l'article pour chaque condition expérimentale (une condition expérimentale étant par exemple l'inhibition par histamine à 10^{-30} mol/L avec l'antisérum anti-IgE à 0,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour le laboratoire 1). On constate que les pourcentages de dégranulation sont « déplacés » vers les inhibitions à droite de l'abscisse 0%. Si globalement il n'y avait pas d'inhibition (hypothèse nulle), la courbe de distribution devrait être centrée sur 0% d'inhibition.

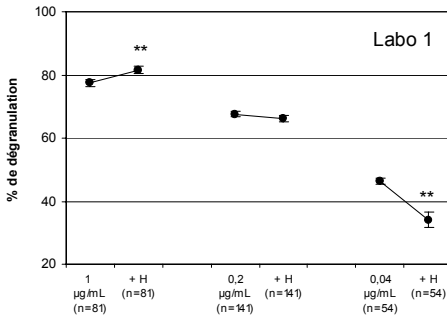
(Chaque point sur l'axe des abscisses correspond à la borne supérieure de l'intervalle).

Les résultats obtenus, laboratoire par laboratoire, sont représentés sur la Figure 23.2. On constate que les résultats sont sensiblement différents selon les laboratoires. Tout d'abord, il n'y a pas d'effet significatif des hautes dilutions d'histamine pour le laboratoire 2. C'est celui de F. Wiegant dont le groupe de recherche avait déjà publié qu'il n'observait pas d'effet des hautes dilutions sur les basophiles (dans l'article de Ovelgonne *et al* de 1992 ; cf. note 2). Pourtant c'est celui qui a fourni le contingent d'expériences le plus important. Seuls les laboratoires 1 et 4 observent un effet à la dose la plus élevée d'anti-IgE (1 µg/mL). Mais bizarrement la dégranulation est augmentée en présence des hautes dilutions pour le laboratoire 1 tandis qu'elle est diminuée pour le laboratoire 4. Enfin, Le laboratoire 4 se distingue des 3 autres pour son « efficacité » : un effet inhibiteur par les hautes dilutions d'histamine est observé pour toutes les concentrations d'anti-IgE.

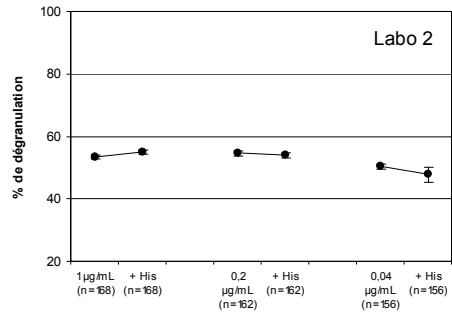
Trois laboratoires sur les quatre obtiennent des effets significatifs à la dose la plus faible d'anti-IgE (0,04 µg/mL). L'inhibition étant la plus importante à cette concentration d'anti-IgE, il est intéressant de l'étudier, non plus globalement comme ci-dessus, mais en fonction de chaque dilution d'histamine comme sur la Figure 23.3.

La figure 23.3 permet de constater que les résultats de l'étude européenne – en « inhibition » sur le premier pic et avec la méthode au bleu alcian – ne sont pas très reproductibles entre les quatre laboratoires. De plus, les différences entre tubes « actifs » et contrôles sont peu importantes et les pics d'activité se sont évanouis. On se souvient que P. Belon avait déprécié les résultats de l'article de *Nature* de 1988, en particulier parce que « les pics d'activité n'étaient pas stables ». La reproductibilité était également selon lui sujette à caution. La méthode avec le bleu alcian et les expériences « en inhibition » étaient censées produire de meilleurs résultats. Même si globalement un effet significatif persiste pour cette étude, on remarque ici également que la procédure à l'aveugle conduit à abolir les différences entre les différentes hautes dilutions (il n'y a pas de « dose-réponse »).

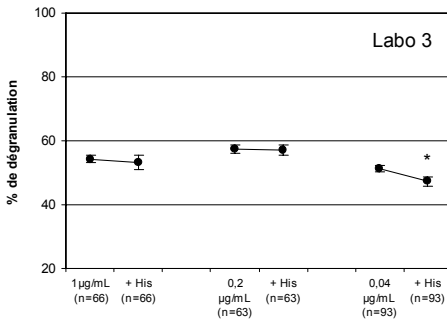
Laboratoire 1 (Jean Sainte-Laudy, France)



Laboratoire 2 (F. Wiegant, Pays-Bas)



Laboratoire 3 (M. Ennis, Royaume-Uni)



Laboratoire 4 (P. Mannaioni, Italie)

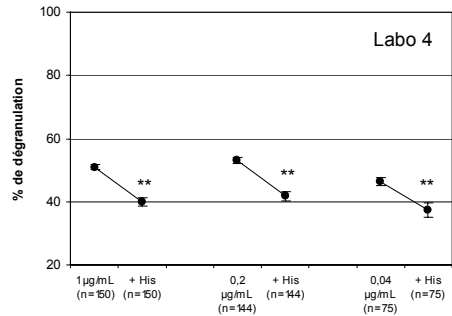


Figure 23.2. L'analyse de l'étude européenne avec quatre laboratoires conclut que globalement les hautes dilutions d'histamine inhibent plus fréquemment la dégranulation que ne le voudrait le hasard ($p < 0,0001$).

Nous avons représenté ici les résultats à partir des données de l'article publié en 2004 dans *Inflammation Research*, laboratoire par laboratoire. L'effet de l'ensemble des hautes dilutions d'histamine (+H) sur la dégranulation provoquée par l'anti-IgE à différentes concentrations (0,04 ; 0,2 et 1 µg/mL) est comparé à l'effet de l'anti-IgE seul aux mêmes concentrations. A noter que cette représentation ne permet pas de mettre en évidence – et risque même de la masquer – les classiques « vagues » des effets des hautes dilutions. On observe néanmoins des différences significatives (* $p < 0,005$. ** $p < 0,0001$) pour certains points, plus fréquemment pour la concentration d'anti-IgE la plus faible (0,04 µg/mL). C'est pourquoi nous avons repris dans la figure 23.3 les résultats à cette concentration d'anti-IgE en représentant les effets de toutes les dilutions (de 10^{-30} à $1/10^{-38}$ mol/L).

Les résultats sont représentés par les moyennes \pm S.E.

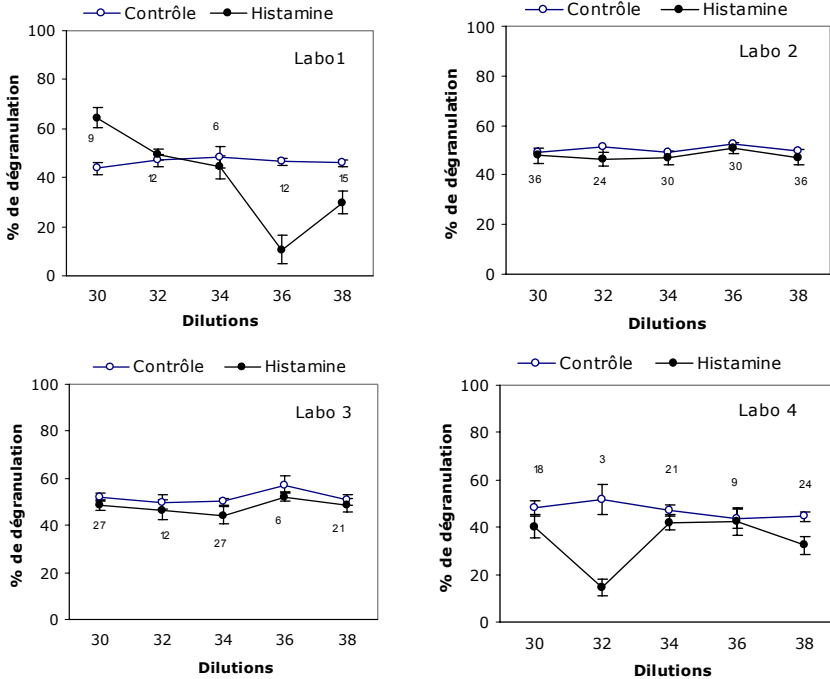


Figure 23.3. Cette figure correspond aux résultats de la figure 23.2 pour l'anti-IgE 0,04 µg/mL. En effet c'est à cette concentration d'anti-IgE que les résultats les plus significatifs sont observés dans l'étude européenne. Les dégranulations provoquées par anti-IgE 0,04 µg/mL sont présentées en présence et en absence (contrôle) d'histamine (de 10^{-30} à 10^{-38} mol/L). Les résultats sont donc très différents selon les laboratoires et si un effet significatif est retrouvé globalement, on n'observe pas de « vagues » d'inhibitions. Même au sein de chaque laboratoire, on ne parvient pas à décider si telle ou telle haute dilution d'histamine est une dilution « active ». Ceci contraste avec les résultats antérieurs rapportés par J. Sainte-Laudy et P. Belon.

Les nombres sous chacun des symboles correspondent au nombre de points expérimentaux (pour chaque point expérimental, il y a autant de points histamine à haute dilutions que de contrôles correspondants).

Abscisses : la dilution « 30 » correspond à 10^{-30} mol/L.

Même J. Sainte-Laudy ne retrouve pas à l'aveugle des résultats aussi spectaculaires et réguliers que ceux qu'il obtenait auparavant. De plus, en contradiction avec les résultats des autres laboratoires et avec ses propres résultats antérieurs, à la concentration d'anti-IgE la plus élevée (1 µg/mL), ce n'est plus une inhibition qu'il observe, mais au contraire une augmentation de la dégranulation des basophiles.

Pourtant, la nouvelle technique avec le bleu alcian était censée permettre des comptes de basophiles avec une meilleure reproductibilité et le système en « inhibition » était réputé avoir fait ses preuves. Bref, on allait voir ce qu'on allait voir. A l'arrivée, c'est – comme pour l'article des *Comptes Rendus* de J. Benveniste et A. Spira – la même perplexité qui est au rendez-vous : on obtient certes un effet globalement significatif sur le plan statistique mais son « message » est brouillé si on considère les résultats plus localement, c'est-à-dire au niveau de chaque dilution. Et, ici aussi, les « instruments de mesure » ont des performances très différentes.

Interrogé en 2001 sur les résultats de cette étude qui venaient pour la première fois de faire l'objet d'une communication à un congrès, J. Benveniste – qui a à cette époque abandonné les basophiles depuis de nombreuses années pour se consacrer à ce qu'il nomme la « biologie numérique » (cf. deuxième partie) – déclare : « Ils sont parvenus exactement au même point où nous avons commencé il y a douze ans ! »⁵

« La terreur de l'homéopathie »

Cette expérience menée avec plusieurs laboratoires européens a néanmoins permis de convertir une « incroyante », en l'occurrence M. Ennis de Belfast qui dirige l'un des quatre laboratoires participants. Voici comment M. Ennis est décrite dans *New Scientist* :

« Madeleine Ennis, une pharmacologiste de *Queen's University* à Belfast était la terreur de l'homéopathie. Elle s'insurgeait contre l'affirmation qu'un remède chimique dilué au point qu'un échantillon en contienne moins d'une molécule puisse être autre chose que de l'eau et qu'il puisse guérir. Jusqu'au jour où elle a voulu montrer de façon définitive que l'homéopathie n'était qu'un non sens ridicule. Dans son article le plus récent, Ennis décrit comment son équipe a étudié les effets de solutions d'histamine extrêmement diluée sur des globules blancs responsables de l'allergie. [...] L'étude, reproduite par quatre laboratoires différents, a montré que des solutions homéopathiques – diluées au point qu'elles ne contenaient probablement pas une seule molécule d'histamine – avaient la même efficacité que l'histamine. Ennis n'est peut être pas d'accord avec les affirmations des homéopathes, mais elle admet qu'un effet ne peut être écarté. »⁶

On sait que les convertis de fraîche date sont souvent les plus prosélytes ! Ils ne se privent pas de raconter les conditions de leur « conversion » sur le mode

« je ne voulais pas y croire mais les résultats étaient là ». M. Ennis rapporte son évolution de la façon suivante :

« J'étais incroyablement surprise et j'avais beaucoup de mal à y croire, mais je savais comment les expériences avaient été réalisées et je ne voyais pas où une erreur pouvait avoir été faite. »⁷

A une autre occasion, elle déclare :

« En dépit de mes réserves vis-à-vis de l'homéopathie [...] les résultats m'ont obligée à suspendre mon jugement et à chercher une explication rationnelle à nos constatations. »⁸

Afin d'approfondir ces résultats, M. Ennis met alors en place dans son laboratoire une méthode qui évite de compter les basophiles. Pour dire les choses simplement, cette méthode repose sur la mise en évidence d'une molécule présente dans les granules des basophiles et qui est « transportée » à la surface de la cellule au cours de la dégranulation. Il existe des anticorps spécifiques de cette molécule et on peut ainsi la « marquer » par une molécule fluorescente et quantifier la dégranulation. Cette méthode avait déjà été utilisée par J. Sainte-Laudy⁹ et M. Ennis applique les conditions expérimentales que ce dernier a définies. En 2001, M. Ennis publie, sous forme d'une communication à un congrès, des résultats préliminaires utilisant cette méthode et qui sont en faveur d'un effet des hautes dilutions d'histamine.¹⁰

Les résultats de M. Ennis connaissent alors une certaine publicité au Royaume-Uni car au cours d'une émission de télévision de la BBC2, une tentative de réplique de ces résultats – pourtant préliminaires – a lieu. L'initiative n'en revient pas à M. Ennis, mais au producteur de la série scientifique *Horizons*. Le but est de gagner le prix de un million de dollars offert par la fondation présidée par J. Randi (encore lui). Ce prix est destiné à quiconque pourra prouver la réalité d'un effet « paranormal » (les hautes dilutions étant apparemment rangées sous la même rubrique...). Une équipe scientifique est constituée (étrangère à M. Ennis et à son laboratoire) et l'émission est diffusée le 26 novembre 2002. Le résultat est considéré comme un échec et le million de dollars reste sur le compte bancaire de J. Randi...

Quelque temps après une polémique se développe car il apparaît que le protocole qui a été suivi par les scientifiques en charge de l'étude n'est pas selon M. Ennis celui qu'elle a utilisé.¹¹ Par ailleurs aucun des scientifiques « recrutés » pour l'occasion n'avait une compétence particulière concernant le champ de recherche concerné.

Nous ne commenterons pas au-delà ces travaux pour lesquels nous n'avons que des informations indirectes car les résultats de l'expérience et le protocole

expérimental n'ont bien entendu pas été publiés. Mais nous voyons ici encore se reproduire un schéma qui nous est maintenant familier : des experts auto-désignés, une ambiance de foire où la science se fait sur des tréteaux avec les médias pour témoins. Au final c'est la confusion des idées qui prévaut où la vérité – si vérité il y a – ne parvient plus à trouver son chemin.

Notes de fin de chapitre

¹ F.A.C. Wiegand. Memory of water revisited. *Nature*, 4 août 1994, p. 322.

² Il s'agit de l'article suivant : Ovelgonne JH, Bol AW, Hop WC, van Wijk R. Mechanical agitation of very dilute antiserum against IgE has no effect on basophil staining properties. *Experientia* 1992 ; 48 : 504–8. (Department of Molecular Cell Biology, State University of Utrecht, The Netherlands).

En fait dans cet article, Ovelgonne *et al* avaient comparé deux séries d'anti-IgE à hautes dilutions (de 1/10²¹ à 1/10³⁰) au cours de 24 expériences. L'une des séries d'anti-IgE était agitée et l'autre était obtenue « en pipettant très doucement et en retournant le tube doucement 10 fois pour mélanger le contenu après dilution ». Malheureusement, les auteurs n'ont pas réalisé une série contrôle (sans anti-IgE). La méthode de dilution « douce » n'était donc pas contrôlée et il est par conséquent difficile de savoir dans quelle mesure une certaine « activité » anti-IgE n'était pas présente dans ces hautes dilutions. On a vu dans l'article de Hirst *et al* que les dilutions réalisées sans agitation avaient une activité qui était en quelque sorte intermédiaire entre celle de « vrais » contrôles, c'est à dire des tubes contrôles agités et de « vraies » hautes dilutions d'anti-IgE c'est à dire des dilutions d'anti-IgE agitées.

³ Il y eut un résumé de congrès en 1991 dans *Inflammation Research* 48 (Suppl 1) : S17-8. L'article de 2004 fut soumis à *Inflammation Research* en décembre 2002 et accepté en novembre 2003.

⁴ Belon P, Cumps J, Ennis M, Mannaioni PF, Roberfroid M, Sainte-Laudy J, Wiegant FA. Histamine dilutions modulate basophil activation. *Inflammation Research* 2004 ; 53 : 181–8.

⁵ L. Milgrom. Thanks to the memory. *Guardian*, 15 mars 2001.

⁶ Michael Brooks. 13 things that do not make sense. *New Scientist* n°2491, 19 mars 2005.

⁷ Interview de M. Ennis au cours de l'émission de télévision *Horizons* de BBC2 du 26 novembre 2002.

⁸ L. Milgrom. Thanks to the memory. *Guardian*, 15 mars 2001.

⁹ Sainte-Laudy J, Belon P. Analysis of immunosuppressive activity of serial dilutions of histamine on human basophil activation by flow cytometry. *Inflammation Research* 1996 ; 45 Suppl 1 : S33–4.

¹⁰ Brown V, Ennis M. Flow-cytometric analysis of basophil activation: inhibition by histamine at conventional and homeopathic concentrations. *Inflammation Research* 2001 ; 50 Suppl 2 : S47–8.

¹¹ Robert Matthews. TV homeopathy trial was 'flawed'. *New Scientist*, 7 décembre 2002.