

Etude sérologique après inoculation de *Treponema pallidum* chez des souris normales et thymectomisées à la naissance

Depuis longtemps on a cherché à utiliser la souris pour l'étude de la syphilis expérimentale. Malheureusement, on s'est aperçu rapidement qu'il ne s'agissait pas d'un animal de choix car aucune lésion clinique ne peut être décelée quelle que soit la voie d'inoculation du tréponème pâle¹⁻³. Pourtant, le tréponème peut se multiplier chez cet hôte et persister de nombreux mois au niveau des différents organes. Néanmoins, chez cet animal, les réactions utilisant les antigènes cardiolipidiques restent dans la règle négatives; quant au test de Nelson il ne se positive qu'exceptionnellement⁴⁻⁶. Aussi avons-nous appliqué à la souris une autre technique sérologique: le FTA test. En outre, nous avons étudié les conséquences de l'injection de *Treponema pallidum* à ces rongeurs thymectomisés à la naissance pour juger de la pathogénicité de ce spirochète sur des animaux ainsi opérés dont les réactions immunitaires sont très altérées.

Matériel et technique. Une injection intradermique de 1/10 de millilitre d'une suspension en eau physiologique contenant environ 24×10^6 tréponèmes pâles par millilitre (souche Nichols) a été pratiquée chez 32 souris CF₁ âgées de 1 mois, dont 15 étaient thymectomisées à la naissance et 17 normales non opérée.

Des prises de sang ont été réalisées dans le sinus caveux avant inoculation puis 21 jours après et régulièrement par la suite. Des réactions d'immunofluorescence⁷ ont été effectuées selon la technique de DEACON⁸ sur chacun des prélèvements. Nous avons testé ces sérums à la dilution du 1/25 puis, en cas de positivité aux dilutions suivantes, de 1/50, 1/100, 1/200. La dilution du 1/25 a été choisie comme dilution limite après avoir testé en immunofluorescence le sérum de 20 souris normales parmi lesquelles nous n'avons trouvé que 2 réactions positives à 1/15. Parallèlement, d'autres réactions sérologiques comprenant le Kline et le Nelson ont été pratiquées respectivement au 76e et 86e jours.

Résultats et discussion. (1) Aucune des souris (normales ou thymectomisées) n'a présenté de lésions, tant au point d'inoculation qu'à distance. Neuf des thymectomisées sont mortes avec le tableau de «wasting disease» habituel chez des animaux ayant subi l'ablation du thymus à la naissance. Par contre, aucun des témoins normaux n'a manifesté de phénomène de rabougrissement. Il semble donc que la thymectomie néonatale ne modifie pas les conditions de réceptivité de la souris au tréponème pâle et que cet animal ne présente pas plus de lésions qu'il soit ou non thymectomisé.

(2) En ce qui concerne les réactions sérologiques (Tableau) il apparaît que le FTA 25, tel que nous l'avons choisi, se positive au 21e jour dans 35,2% des cas chez les souris normales et seulement chez 6,6% des thymectomisées. On constate une différence du même ordre jusqu'au 61e jour où tous les animaux témoins ont une immunofluorescence positive alors que 76,9% seulement des thymectomisées ont un sérum positif. A partir du 76e jour tous les animaux testés par le FTA 25 sont trouvés positifs mais on s'aperçoit que dès le 61e jour les titres (Tableau) des animaux thymectomisés sont souvent plus élevés que ceux des témoins.

Donc, la thymectomie ne supprime pas les réactions humorales lors de la pénétration du tréponème pâle chez la souris mais les retarde. Par contre, leur intensité semble plus importante chez les animaux opérés. On peut essayer de trouver une explication à cette apparente contradiction dans le comportement immunologique de la souris thymectomisée aux différentes périodes suivant

l'intervention. On sait que chez de tels animaux les réactions immunitaires de type humoral et cellulaire sont altérées, surtout ces dernières. Pourtant, au bout de quelques mois (le troisième environ)⁹, les animaux thymectomisés ont une réponse humorale sensiblement normale. Ceci étant, on peut admettre qu'au moment de l'inoculation des souris thymectomisées âgées de 1 mois les tréponèmes vont pouvoir se multiplier plus activement étant donné le déficit important de l'immunité cellulaire. Dans ces conditions, lorsque les animaux thymectomisés survivants auront récupéré une immunité

Evolution du FTA quantitatif chez des souris CF₁ normales et thymectomisées à la naissance après inoculation de *Treponema pallidum*

No. de jours après inoculation	21	36	46	61	76	86	107
Intervalle entre les prises de sang		+15	+10	+15	+15	+10	+21
Souris témoins							
No. de souris avec anticorps par No. de souris total	6/17	14/17	14/16	16/16	14/14	11/11	8/8
%	35,2	82,3	87,5	100	100	100	100
Répartition des titres	5-25 1-50	8-25 5-50 1-100	7-25 6-50 1-100	4-25 7-50 5-100	2-25 6-50 4-100 2-200	2-50 6-100 2-200 1-400	3-50 4-100 1-200
Souris thymectomisées à la naissance							
No. de souris avec anticorps par No. de souris total	1/15	7/14	8/13	10/13	12/12	10/10	3/3
%	6,6	50	61,5	76,9	100	100	100
Répartition des titres	1-25	2-25 5-50	2-25 6-50	2-25 4-50 2-100 1-200 1-400	1-25 2-50 2-100 4-200 2-400 1-1600	1-25 3-50 3-100 2-200 1-400	1-25 1-50 1-100

¹ B. GUEFT et P. D. ROSALIN, Am. J. Syph. 32, 59 (1948).

² W. KOLLE et H. SCHLOSSBERGER, Dt. med. Wschr. 52, 1245 (1926).

³ P. D. ROSAHN, Archs Derm. Syph. 66, 547 (1952).

⁴ W. BERLINGHOFF, Derm. Wschr. 136, 929 (1957).

⁵ N. M. OVCNNIKOV, Moscow Medgiz. (1955).

⁶ C. P. MACLEOD et H. J. MAGNUSON, J. vener. Dis. Inf. 32, 274 (1951).

⁷ Nous avons utilisé pour nos réactions d'immunofluorescence le conjugué antiglobulines de souris de l'Institut Pasteur.

⁸ W. E. DEACON, E. M. FREEMAN et A. HARRIS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 103, 827 (1960).

⁹ G. REGISTER, Transplantation 3, 669 (1965).

humorale normale, ils auront à leur disposition une quantité beaucoup plus importante d'antigènes tréponémiques et en conséquence la quantité d'anticorps formée sera plus élevée.

Les réactions de Kline sont en général négatives. Pourtant, dans 2 cas, chez les thymectomisées, on trouve une floculation faiblement positive. Quant au Nelson on le rencontre une fois faiblement positif chez les témoins et une fois douteux chez les souris opérées. Ces derniers résultats sont en accord avec ce qu'on trouve dans la littérature se rapportant à l'étude expérimentale de la syphilis chez la souris: négativité de la sérologie classique⁵, positivité exceptionnelle du Nelson.

Il est très vraisemblable que l'absence d'anticorps anti-cardiolipidique correspond à l'absence de lésions déterminées par le tréponème chez la souris ce qui a été signalé également chez le rat^{3,10}. Par contre, chez le hamster¹⁰, la sérologie classique est trouvée positive après le test de Nelson car chez cet animal les lésions sont tardives. Pour expliquer le test de Nelson généralement négatif chez la souris après inoculation, il semble qu'on doive admettre une faible immunogénicité de l'antigène spécifique de *T. pallidum* chez cet animal

puisque seulement des injections répétées de *T. pallidum* ont permis à McLEOD et MAGNUSON⁶ d'obtenir régulièrement des Nelson positifs.

Summary. The purpose of this study was to investigate modifications in the behaviour of a thymectomized mouse towards *Treponema pallidum*, and whether an immunofluorescence technique could take the place of the insufficiencies of classic serology and of Nelson test in syphilized mice.

J. THIVOLET, J. C. MONIER,
M. SEPETJIAN et D. SALUSSOLA¹¹

Laboratoire d'Hygiène, Faculté de Médecine,
Lyon 8e (France), 7 octobre 1968.

¹⁰ T. FREDRIKSSON, B. HEDERSTEDT et S. ROSENGREN, Acta path. microbiol. scand. 72, 125 (1968).

¹¹ Avec la collaboration technique de Mme S. MORAND et Mlle C. BURG.

Effect of Actinomycin D on the Production of Acute Phase Protein in the Rabbit

Studies on the production of the acute phase protein in the serum of the rabbit (CxRP) have shown that this process is essentially independent of antibody production¹. Blockage of the reticulo-endothelial system with Thorotrast resulted in a decreased production of CxRP². In rabbits, the liver is the only organ giving evidence of involvement in the synthesis of this protein³. Studies on the acute phase protein of the rat⁴ have shown that the synthesis of this protein is partially inhibited by actinomycin D or puromycin. However, there are a number of differences between the acute phase protein of the rat and CxRP of the rabbit. Therefore, the present study was undertaken on the effect of actinomycin D on CxRP production.

Mature New Zealand white rabbits were used and their sera were tested to ensure the absence of CxRP. On the basis of previous observations by HURLIMAN³, rabbits were stimulated to produce CxRP by the i.m. injection (gastrocnemius) of turpentine. Actinomycin D (200 µg/kg) was then administered i.p. to the experimental groups of rabbits at 0, 6, or 12 h after stimulation with turpentine. The control groups of rabbits received the same dosage of actinomycin D alone or the drug solvent (ethanol-saline). Blood samples were taken immediately before the injection of turpentine (zero hour), and at 12-h intervals thereafter over a period of 48 h. Titers of serum CxRP were determined by the capillary precipitation technique⁵ against antiserum specific for CxRP.

Results presented on the Table represent the average titers of CxRP in the rabbit serum samples in the different groups. Rabbits receiving turpentine alone showed a high level of CxRP at the 12th h after stimulation. This continued to increase through the 24th h at which time the maximum level was reached and remained constant through the 48th h, as shown graphically in the Figure. Rabbits receiving actinomycin D at zero or 6 h after

administration of turpentine showed a significant inhibition of the synthesis of serum CxRP at the 12th h. However the sera of these 2 groups of rabbits showed a sharp rise in titer of CxRP between the 12th and 24th h. Thus the inhibitory effect of the drug on the synthesis of CxRP had a duration of approximately 12 h. In rabbits administered actinomycin D 12 h after the turpentine, their sera showed a significant decrease in the rate of production of their CxRP between the 12th and 24th h, in contrast to the increase in titer noted for the group receiving only turpentine. The actinomycin D control group of rabbits showed a sharp rise in titer of serum CxRP after the 12th h and continued through the 36th h. This rise in serum titer paralleled that of the group of rabbits receiving the drug at the same time as the turpentine. In the group of rabbits receiving the drug solvent, their sera showed a slight rise in titer of CxRP with the maximum level of the protein appearing at 24 h. Preliminary experiments with the use of cycloheximide given to rabbits i.p. (10 mg/kg) showed a degree of inhibition of the synthesis of CxRP similar to that achieved with actinomycin D.

It might be noted that actinomycin D itself stimulated the production of CxRP, which has previously not been reported. Unpublished results by HOKAMA (personal communication) indicated that actinomycin D, injected i.v., had no effect on the production of CxRP, even at

¹ Y. HOKAMA, M. COLEMAN and R. RILEY, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 105, 510 (1961).

² S. MONTELLA and H. WOOD, J. exp. Med. 106, 321 (1957).

³ J. HURLIMAN, G. THORBECKE and G. HOCHWALD, J. exp. Med. 123, 365 (1966).

⁴ D. DARCY, Br. J. exp. Path. 48, 608 (1967).

⁵ D. SELMAN and A. HALPERN, Angiology 7, 292 (1956).