

Résistance accrue des Souris axéniques à l'immunodépression induite par une irradiation totale

L'effet immunodépresseur des rayons X a été décrit par de nombreux auteurs¹. L'immunodépression, mesurable après irradiation, dépend de plusieurs facteurs, en particulier: de la dose d'irradiation totale; du temps qui sépare le ou les stimuli antigéniques de l'irradiation; de la nature de l'antigène. BENVENISTE et al.² ont montré une résistance accrue des souris axéniques à l'effet immunodépresseur des corticoïdes. Nous avons voulu savoir si cette résistance était inhérente au caractère axénique des animaux ou à l'agent immunodépresseur, et choisi pour cette étude, les rayons X administrés à dose sublétales.

Matériel et méthodes. 89 souris axéniques et 93 souris holoxéniques de lignée C₃H/J, mâles et femelles âgés de 2 à 3 mois, furent utilisées. Les souris axéniques étaient élevées selon la technique habituelle². La répartition des animaux par cage était identique pour les animaux axéniques et holoxéniques.

Dans la première série expérimentale, chaque lot de souris axéniques et holoxéniques fut divisé en 4 groupes G1, G2, G3, G4. Trois groupes furent irradiés respectivement une semaine avant (G1), le jour même (G2) et une semaine après la première immunisation (G3). Un groupe témoin (G4) était immunisé, mais non irradié. La saignée pour l'étude de la réponse primaire était pratiquée une semaine après l'immunisation dans les groupes G1, G2, G4; deux semaines après dans le groupe G3. Pour l'étude de la réponse secondaire, la première et la deuxième immunisations étaient espacées de 7 jours, et la saignée était pratiquée une semaine après la deuxième immunisation dans les 4 groupes.

La deuxième série expérimentale ne comportait que 2 groupes. L'un était irradié, puis immunisé deux fois:

7 jours et 14 jours après l'irradiation; et saigné chaque semaine pendant 3 semaines consécutives, à partir du 14^{ème} jour après la première immunisation. L'autre groupe constituait le témoin non irradié.

Nous avons choisi les antigènes flagellaire «H» et somatique «O» de *Salmonella typhosa* (Institut Pasteur) injectés à raison de 0,20 ml du mélange, à parties égales, par voie i.p. (1 ml de chaque suspension antigénique contient 1×10^8 corps bactériens tués). Les rayons X ont été administrés à dose sublétales (300 R), sous forme d'une irradiation totale unique. Chaque sérum était analysé individuellement sur des plaques de microtitrage. Les titres d'anticorps agglutinants anti O et H sont exprimés par l'inverse du log. 2 de la dernière dilution positive.

Résultats et discussion. On observe une immunodépression importante en réponse secondaire et totale en réponse primaire, lorsque l'irradiation précède ou accompagne l'immunisation (tableaux 1-2; groupes 1-2). Lorsque les animaux sont immunisés avant d'être irradiés, la réponse immunitaire est normale (groupe 3). A l'intérieur de chaque groupe, le taux d'anticorps mesuré chez les souris axéniques et holoxéniques ne diffère significativement que dans le groupe 1 avec l'antigène H. Dans le seul groupe 1, parmi les souris holoxéniques, on peut signaler un taux de mortalité élevé.

La deuxième expérience confirme la plus grande résistance des souris axéniques à l'immunodépression radio-induite (tableau 3). Les titres faibles des agglutinines anti O en réponse secondaire (première saignée) chez les souris axéniques, au cours des deux expériences, traduit une dépression transitoire de la fonction immunitaire. 7 jours plus tard, les titres mesurés sont strictement identiques à ceux des animaux témoins. L'écart subsiste entre souris traitées et témoins chez les animaux holoxéniques.

Ce travail confirme la résistance à l'immunodépression et à l'infection des animaux immunisés avant d'être irradiés^{1,3}.

Quand l'irradiation précède l'immunisation, la réponse secondaire à l'antigène H est significativement moins déprimée chez les souris axéniques que chez les souris holoxéniques. La masse de tissu lymphoïde est plus faible chez les animaux axéniques⁴. Chez ces souris, le nombre

Tableau I. Taux d'anticorps agglutinants anti H mesuré au cours de la réponse primaire

Réponse primaire anti H	<i>n</i>	Axéniques		Holoxé- niques	<i>n</i>
Groupe 1	11/11	0 °	NS	0,50 °	6/10
Groupe 2	10/10	0,20 °	NS	1,00 °	10/10
Groupe 3	10/10	5,50 (NS)	NS	5,00 (NS)	10/10
Groupe 4 (témoin)	10/10	5,00	NS	4,70	10/10

Les limites de significativité ont été calculées par le test-t Student: ° $p \leq 0.5$; ° $p \leq 0.01$; ° $p \leq 0.001$. Les indications entre parenthèses se rapportent au groupe témoin. n, nombre d'animaux survivants/ nombre total.

¹ C. A. LEONE, in *Ionizing Radiation and Immune Processes* (Science Publishers, New York 1962), p. 183.

² J. BENVENISTE et J.-C. SALOMON, *Path. Biol.* 17, 133 (1969).

³ E. J. AINSWORTH et H. B. CHASE, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 102, 483 (1959).

⁴ D. BRANCINI, J. BENVENISTE, J.-C. SALOMON et J. BENZONI, *Ann. Inst. Pasteur* 114, 828 (1968).

Tableau II. Taux d'anticorps agglutinants anti O et H mesurés au cours de la réponse secondaire

Réponse secondaire anti O et H	<i>n</i>	Axéniques H		Holoxé- niques H	<i>n</i>	<i>n</i>	Axéniques O		Holoxé- niques O	<i>n</i>
Groupe 1	8/8	5,12 ^b	^a	2,00 ^b	5/12	8/8	3,00 (NS)	NS	2,00 ^a	5/12
Groupe 2	8/8	4,62 ^c	NS	3,25 ^b	8/8	8/8	1,50 ^b	NS	1,00 ^b	8/8
Groupe 3	8/8	7,00 (NS)	NS	6,12 (NS)	8/8	8/8	5,20 (NS)	NS	4,25 (NS)	8/8
Groupe 4 (témoin)	5/5	8,00	NS	6,75	4/5	5/5	5,80	NS	6,70	4/5

Les limites de significativité ont été calculées par le test-t Student: ° $p \leq 0.5$; ° $p \leq 0.01$; ° $p \leq 0.001$. Les indications entre parenthèses se rapportent au groupe témoin. n, nombre d'animaux survivants/ nombre total.

Tableau III. Taux d'anticorps agglutinants anti O et H mesurés au cours de la réponse secondaire

Réponse secondaire anti O et H	T/C	<i>n</i>	Axéniques TH		Holoxé- niques TH	<i>n</i>	<i>n</i>	Axéniques TO		Holoxé- niques TO	<i>n</i>
1ère saignée	T	12/12	6,33 ^c		1,70 ^b	8/12	12/12	2,20	NS	1,00 ^b	8/12
	—	—	NS			—	—	NS			—
	C	8/8	7,60	NS	5,70	8/8	8/8	4,30	NS	5,60	8/8
2ème saignée	T	12/12	5,50 ^b	^b	2,00 ^a	5/12	12/12	6,00 ^b	^b	1,60 ^a	5/12
	—	—				—	—	NS			—
	C	8/8	8,37	NS	6,70	8/8	8/8	5,70	NS	5,20	8/8
3ème saignée	T	12/12	6,83	NS	4,00	5/12	12/12	6,08	NS	3,20	5/12
	—	—	NS		^a	—	—	NS		NS	—
	C	8/8	9,00	NS	9,37	8/8	8/8	5,62	NS	4,20	8/8

Les limites de significativité ont été calculées par le test-*t* Student: ^a $p \leq 0.5$; ^b $p \leq 0.01$; ^c $p \leq 0.001$. *n*, nombre d'animaux survivants/ nombre total. T, traités. C, témoins.

de cellules disponibles pour une réponse à une stimulation antigénique contrôlée est probablement plus grand que chez les souris holoxéniques soumises à des stimulations nombreuses et incontrôlées. Après irradiation, l'écart s'accroît entre souris holoxéniques et axéniques, quant au nombre de cellules immunologiquement compétentes, non engagées dans une réponse immunitaire.

Sans doute, deux autres facteurs diminuent les réponses spécifiques aux antigènes O et H des souris holoxéniques: a) la compétition d'antigène⁵ entre, d'une part, les antigènes O et H, et d'autre part, les antigènes non contrôlés; b) un effet immunodépresseur dû à des produits non définis du métabolisme bactérien⁶⁻¹⁰.

Comme avec les rayons X, après immunodépresseion par les corticoïdes, les souris axéniques recouvrent plus vite une activité immunitaire normale que les souris holoxéniques².

En conclusion, il semble confirmé par cette expérience, que les souris axéniques ont une résistance accrue à l'effet immunodépresseur des rayons X.

Summary. Immunodepression induced by a sublethal dose of X Rays is always less in axenic mice than in holoxenic mice. Frequent infections of irradiated holoxenic mice increases the immunodepressive effect of X Rays.

F. HIGOUNET et J.-C. SALOMON

*Laboratoire d'Immunopathologie,
Institut de Recherches Scientifiques sur le Cancer,
B.P. n° 8, F-94 Villejuif (France), 30 avril 1970.*

⁵ P. LIACOPOULOS, C. r. Acad. Sci. 253, 751 (1961).

⁶ A. MALAKIAN et J.-H. SCHWAB, Science 159, 880 (1968).

⁷ M. S. BROOKE, J. exp. Med. 120, 375 (1964).

⁸ R. D. EKSTEDT et L. L. HAYES, J. Immun. 98, 110 (1967).

⁹ R. D. EKSTEDT and E. T. NISHIMURA, J. exp. Med. 120, 795 (1964).

¹⁰ D. KEAST, Immunology 15, 237 (1968).

Normal Human Blood Treated in vitro with Cephalothin. Relationship Between Serologic and Metabolic Abnormalities of Red Blood Cells

Normal human red cells treated in-vitro with cephalothin under suitable experimental conditions give a positive direct antiglobulin (Coombs) test^{1,2}. These cells display low acetylcholinesterase (AChE) activity^{3,4} and impaired O₂ uptake in the presence of methylene blue³. The mechanism by which this drug causes the above effects has not been fully elucidated and still unclear is the relationship between the serologic and the metabolic abnormalities of the altered red blood cells. The aim of the present study is to investigate this relationship.

Blood was drawn with acid-citrate-dextrose from 2 groups each of 7 healthy subjects and was treated with sodium cephalothin (Keflin Lilly) as previously described², but for various periods of incubation (first group of subjects) or with solutions of different concentrations (second group of subjects). Blood incubated with saline alone served as a control. At the end of the incubation period erythrocytes were washed 4 times with large volumes of saline. The direct antiglobulin test was carried out using commercial anti-whole-human serum (Ortho)

and was scored from \pm to $+++$ depending upon the degree of microscopic agglutination. AChE activity was determined by the manometric Warburg technique according to DE SANDRE et al.⁵ and O₂ uptake in the presence of methylene blue according to OKA and PURANEN⁶.

¹ L. MOLTHAN, M. M. REIDENBERG and M. F. EICHMAN, New Engl. J. Med. 277, 123 (1967).

² S. FERRONE, F. MERCURIALI and G. SIRCHIA, Experientia 25, 78 (1969).

³ S. FERRONE, A. ZANELLA, F. MERCURIALI and C. PIZZI, Eur. J. Pharmac. 4, 211 (1968).

⁴ F. HERZ, E. KAPLAN and D. A. SEVDALIAN, Acta haemat. 41, 94 (1969).

⁵ G. DE SANDRE, G. GHOTTO and G. MASTELLA, Acta med. patav. 16, 291 (1956).

⁶ M. OKA and J. PURANEN, Acta haemat. 28, 119 (1962).