

### **Partie III**

## **RÉCAPITULATION ET DISCUSSION**



## RÉCAPITULATION ET DISCUSSION

---

La plupart des études incluses dans cette monographie concernent les recherches poursuivies dans ce laboratoire durant les dix dernières années; quelques-unes, cependant, sont antérieures. On souhaiterait avoir fait davantage. Pourtant il faut reconnaître que nos connaissances sur les tréponématoses sont maintenant plus complètes qu'autrefois et qu'elles permettront, sur le plan pratique, d'améliorer les méthodes de lutte contre ces maladies, donc de diminuer le nombre des infections et de limiter les souffrances chez ceux qui en sont atteints.

Dans ce chapitre, nous résumerons les principaux points mis en lumière au cours de ces études et, dans la mesure du possible, nous essaierons de les considérer en fonction de données fondamentales sur la biologie des tréponématoses.

### I. BIOLOGIE DES INFECTIONS A TRÉPONÈMES

#### Origine des souches étudiées

Comme nous l'avons vu au chapitre I, 70 sur 76 souches de tréponèmes isolées sont d'origine humaine et 6, des souches de tréponèmes cuniculi provenant de lapins. Parmi les souches d'origine humaine, 39 proviennent de malades diagnostiqués cliniquement comme syphilitiques; 20, de malades atteints de pian; 3, de malades atteints de bétel et 8 d'individus présentant un des syndromes classiques des tréponématoses endémiques. Il y eut quelques échecs au cours des tentatives d'isolement; ces échecs ont eu lieu soit au début de notre expérimentation, quand nous étions bien moins renseignés qu'à présent sur les facteurs dont dépendent les résultats de l'isolement, soit dans les cas où ayant à notre disposition des souches en abondance, nous ne nous entourions pas suffisamment de précautions et utilisions bien moins d'animaux que dans les cas où les sources de tréponèmes étaient rares.

En considérant les expériences dans leur ensemble, nous estimons que le hamster est l'animal de laboratoire de choix pour l'isolement des souches de tréponèmes. Toutes les races d'origine humaine étudiées, à l'exception des tréponèmes de la pinta, provoquèrent chez le hamster des lésions au point

d'inoculation, ou bien se localisèrent au niveau des ganglions lymphatiques voisins, à partir desquels on pouvait facilement les isoler. Le transfert du hamster au lapin a permis, en général, de fixer la souche chez cette dernière espèce.

Le transfert direct de l'homme au lapin a été couronné de succès dans une grande proportion de cas. Dans l'ensemble, l'inoculation du matériel infectant dans le corps des testicules a donné les résultats les meilleurs, mais des infections secondaires ont souvent déterminé des lésions purulentes au niveau des testicules, ce qui a réduit, par conséquent, les chances de succès de l'isolement. L'injection de matériel infectant dans la peau du dos ou par scarification de la peau du scrotum a généralement permis d'éviter les difficultés dues à des infections secondaires; mais les résultats positifs étaient moins nombreux que par la voie intratesticulaire. Pour isoler les souches chez le lapin, il est recommandé d'employer les trois voies d'inoculation.

Dans ce laboratoire, la plupart des inoculations au hamster ont été faites par inoculation du matériel infectant par voie intradermique dans la région de l'aîne. Il n'est pas prouvé que cette région soit spécialement favorable, cependant, notre impression est qu'elle est plus satisfaisante, dans une certaine mesure, que, par exemple, la peau du dos. Dans la première région, la fourrure de l'animal est moins abondante que dans l'autre et, par la suite, une lésion qui s'y développe peut être mieux examinée. De plus, le drainage de la lymphe de cette région se fait dans les ganglions inguinaux qui sont facilement accessibles lors de l'opération. Enfin, l'animal peut être immobilisé d'une main et inoculé de l'autre.

Les inoculations aux lèvres du hamster ne sont pas à recommander, car les lésions qui en résultent gênent l'alimentation de l'animal et augmentent le danger d'infection au laboratoire, par morsure.

Notre expérience en vue d'isoler les tréponèmes de la pinta a été infructueuse mais non sans espoir. Les transferts ont été réalisés, à partir de trois malades, à 30 hamsters et 2 lapins. Comme il est mentionné au chapitre 1, l'examen au fond noir révélait la présence de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques de la région, pour 3 hamsters, mais les passages suivants sur hamsters étaient négatifs. Peut-être devrait-on effectuer d'autres essais, non seulement en employant le hamster et le lapin, mais aussi d'autres animaux de laboratoire.

Dans l'annexe 1, on trouvera des renseignements concernant les malades à partir desquels furent obtenues les souches récemment isolées.

### **Maladies expérimentales chez des animaux de laboratoire**

On savait déjà beaucoup de choses au sujet des infections tréponémiques expérimentales chez les animaux de laboratoire; notre effort personnel, qui a été exposé au chapitre 2, a été principalement orienté vers l'étude des aspects mal connus.

En étudiant la maladie expérimentale chez le lapin, notre attention a d'abord porté sur l'étude de certains mécanismes biologiques fondamentaux se rapportant aux infections tréponémiques, et en second lieu sur la mise au point de techniques permettant une meilleure évaluation quantitative des résultats expérimentaux. Il a souvent été possible de poursuivre en même temps ces deux objectifs.

A la suite de l'inoculation testiculaire ou intracutanée de tréponèmes syphilitiques, on constate une lésion initiale de type induration. D'autres espèces de tréponèmes provoquent un type de lésion moins indurée; ces différences ont été décrites de façon plus détaillée au chapitre 7.

L'évolution clinique de la syphilis expérimentale chez le lapin a été rapportée en même temps que les changements histopathologiques qui l'accompagnent. Parmi ceux-ci, le plus important est la production précoce d'une substance mucoïde qu'on a identifiée comme étant l'acide hyaluronique. Un second stade de l'évolution de la lésion syphilitique est caractérisé par l'accumulation de mononucléaires qui correspond, sans doute, à une réponse immunologique de l'hôte. Dans un troisième stade, une infiltration de leucocytes polynucléaires devient prédominante; elle traduit probablement une réaction à l'agression, à la nécrose et, quelquefois, à une infection secondaire de la lésion. Les modifications histopathologiques produites par les différentes espèces de tréponèmes sont discutées au chapitre 7.

Parmi les recherches faites pour améliorer les méthodes quantitatives, se trouve la méthode d'inoculations multiples sous-cutanées, utilisée surtout pour les expériences d'immunité. Ce procédé, tout en simplifiant la lecture, a l'avantage d'être beaucoup plus précis du point de vue uniformité et reproductibilité que la méthode d'inoculation dans le testicule, l'œil ou le sang circulant. D'autre part, des études furent faites sur le taux de multiplication des tréponèmes au cours des heures et jours qui suivirent l'inoculation aux lapins. On a constaté nettement qu'au bout de 24 à 48 heures, les tréponèmes se multiplient rapidement (phase logarithmique) jusqu'à ce qu'ils soient ralentis par le processus d'immunisation de l'hôte ou par l'intervention d'un autre facteur étranger, tel que l'administration d'antibiotiques, ou une température ambiante défavorable. Il est dans l'essence même de ces méthodes que, mieux seront connues les conditions optimales de développement des tréponèmes, plus sera précise l'évaluation quantitative du rôle d'un facteur donné.

D'après ces études, il est clair que la période d'incubation peut être considérée comme un indice du nombre de tréponèmes viables inoculés, et ceci constitue une méthode indirecte d'une certaine valeur pour l'estimation du nombre de tréponèmes viables dans un inoculum donné.

En se basant sur de nombreuses observations, dans ce laboratoire, nous avons montré qu'il y a une relation directe entre le nombre de tréponèmes (souche Nichols de *T. pallidum*) inoculés au lapin et la période d'incubation de la lésion correspondante. Avec une inoculation intradermique de 500

tréponèmes, la période d'incubation est d'environ 17 jours; avec un inoculum 10 fois plus important ou 10 fois moins important, la période d'incubation est augmentée ou diminuée d'environ 4 à 5 jours. Le temps de reproduction de *T. pallidum* peut être évalué, selon ces données, à 30-33 heures.

La numération des tréponèmes à partir de testicules de lapins, après inoculation d'un nombre connu de micro-organismes, révèle qu'après les premières 24 heures, il y a une augmentation logarithmique régulière de ce nombre; les calculs basés sur ces données montrent également un temps de division de 30-33 heures pour la souche Nichols de *T. pallidum*.

En supposant que chaque tréponème se divise en deux, un seul tréponème, en se multipliant, produirait, après 32 jours environ, quelque 100 millions d'organismes, nombre qu'on estime nécessaire pour produire une lésion macroscopique reconnaissable. Ces méthodes ont été appliquées, en détail, au tréponème syphilitique, mais les résultats seraient valables aussi pour d'autres souches de tréponèmes pathogènes.

La durée de développement de lésions généralisées semble dépendre de deux facteurs: l'un est le moment où le tréponème migre du foyer local, processus qui commence probablement dès les premières heures ou jours de l'infection et continue jusqu'à ce qu'il soit retardé par le mécanisme d'immunité; l'autre est le temps qu'exige la multiplication des quelques tréponèmes du foyer éloigné.

Du point de vue technique, notre étude du hamster en tant qu'animal d'expérience présente beaucoup d'avantages pratiques pour l'isolement et la conservation des souches de tréponèmes. De plus, cet animal nous a permis de constater des différences entre des souches de tréponèmes qui, bien qu'elles ne soient pas tout à fait expliquées, doivent être regardées comme une conséquence de différences biologiques. Trois types de réaction ont été établis chez le hamster: un type Sh caractérisé par un petit nombre de lésions locales, mais avec des réactions ganglionnaires régionales; un type Mh où on observe, en même temps, des lésions locales de la peau et des réactions ganglionnaires; et un type Yh avec des lésions locales qui ont l'aspect habituel et où l'infection des ganglions lymphatiques est rare.

Peu d'études ont été poursuivies sur les tréponématoses expérimentales chez le singe. Avec cet animal, les lésions syphilitiques au point d'inoculation ont tendance à rester petites; des lésions généralisées sont rares et peu marquées. On a montré que *T. cuniculi* était pathogène pour le singe, mais les lésions produites aussi bien que l'évolution de la maladie sont insignifiantes. Cependant, les résultats font penser que *T. cuniculi* peut être également pathogène pour l'homme; la potentialité de ce micro-organisme, en tant qu'agent immunisant contre la syphilis, le pian et les syndromes apparentés, n'a pas été étudiée à fond.

Pour les autres recherches, le singe offre plus d'inconvénients que d'avantages, par comparaison avec le lapin et le hamster, plus petits et moins coûteux. Il est cependant indubitable que certains problèmes seraient mieux

étudiés en utilisant le singe; de telles expériences devraient être poursuivies là où les singes sont abondants et peuvent être maintenus dans de bonnes conditions de santé et de nutrition.

Quelques résultats sont présentés également sur les tréponématoses expérimentales de la souris et du cobaye.

Sur un sujet plus général, nos recherches ont permis de mettre en évidence l'importance de substances telles que l'acide hyaluronique dans la pathogénie des maladies tréponémiques. Bien que ce produit mucoïde ait été décrit à plusieurs reprises dans la pathologie des infections syphilitiques, nous avons été, sans doute, les premiers à suggérer, en nous basant sur quelques preuves expérimentales indirectes, que l'acide hyaluronique était produit par le tréponème lui-même et qu'il a le caractère d'une substance capsulaire, qu'il pouvait y avoir une relation directe entre l'abondance de sa production et la virulence d'une souche déterminée de tréponèmes et que cette sécrétion constituait l'une des principales différences entre des souches tréponémiques d'origines diverses. On a pensé, en outre, que la transformation de l'acide hyaluronique en une forme sulfate, ayant certains caractères de la chondroïtine, serait en relation avec l'ulcération et la cicatrisation du tissu au cours de l'infection, d'où l'hypothèse que ce sont les souches de tréponèmes produisant le plus d'acide hyaluronique qui peuvent causer, en fin de compte, le plus de préjudices à l'animal ou à l'être humain. A la suite de ces études, on est convaincu, bien qu'il n'y ait pas de preuves expérimentales, que la transformation d'un mucopolysaccharide en une forme sulfate, comme on l'admet pour les tréponématoses, serait du même type pour d'autres processus infectieux – notamment les infections à streptocoques – où les divers stades sont peut-être les mêmes.

### **Facteurs affectant l'évolution des tréponématoses expérimentales**

L'étude des facteurs (autres que le parasite ou l'hôte *per se*) qui influent sur le développement des infections tréponémiques chez les animaux de laboratoire, concernait surtout la température ambiante, les facteurs hormonaux, les antibiotiques et certaines substances, ainsi que le mécanisme de l'immunité. Ces recherches ont été discutées au chapitre 3.

#### *Température ambiante*

Nos études concernant les effets de la température sur les infections tréponémiques expérimentales avaient pour but de déterminer la température optimum de croissance *in vivo* des tréponèmes. Comme il arrive souvent, les résultats ont un intérêt qui a largement dépassé l'objectif initial.

D'après de nombreuses expériences, on peut admettre que la température ambiante favorable aux tréponèmes se situerait vers 35° C. Une température légèrement supérieure est néfaste, et si elle atteint 40° C, il se produit une

destruction progressive des tréponèmes. De même, quand la température baisse, on note une inhibition, bien qu'on n'ait pu déterminer la température minimum de multiplication des tréponèmes avec autant de certitude que la température maximale. L'expérience a prouvé que cette multiplication était faible au-dessous de 30° C.

La plupart de ces travaux ont été réalisés avec la souche Nichols de *T. pallidum*, mais les conclusions font penser que d'autres espèces et souches de tréponèmes sont influencées, dans bien des cas, de la même manière que la souche Nichols; et bien que la plupart des études sur des effets de la température aient été faites en utilisant le lapin comme animal d'expérience, les mêmes facteurs sont en jeu chez le hamster.

Il résulte de ces expériences que la localisation des lésions tréponémiques peut, dans la majeure partie des cas, être influencée par la température locale de l'animal ou de l'hôte humain. Par exemple, la température interne du corps du lapin est d'environ 39° C – température qui est normalement plus élevée que celle du corps humain – et les lésions des organes internes sont rares pour ne pas dire inexistantes. Par contre, certaines parties du corps du lapin, en particulier, la peau, les oreilles, les testicules et les extrémités, sont certainement moins chaudes que les organes internes de cet animal, et c'est dans ces parties que les lésions syphilitiques apparaissent le plus facilement, soit directement après inoculation, soit sous forme de métastases.

On ne peut qu'imaginer les effets qu'une température ambiante de longue durée a pu avoir sur les tréponématoses humaines. On peut déduire des études sur la maladie expérimentale que les températures ambiantes élevées, telles celles des tropiques qui entraînent une légère mais réelle élévation de la température cutanée, peuvent avoir un effet légèrement contraire sur les infections tréponémiques dans ces régions, et on peut même envisager une modification importante de ces souches tréponémiques, exposées pendant des années à cette température, vers une variété moins virulente. En poussant plus loin ce raisonnement, on peut admettre qu'à une atténuation de la virulence tréponémique correspond, chez l'hôte, une stimulation antigénique moindre. Ceci peut expliquer le faible développement de la réponse immunologique, avec une tendance à la chronicité et à la rechute, pendant plusieurs années.

#### *Action des hormones*

Des études antérieures réalisées dans d'autres laboratoires ont indiqué que chez les lapins mâles, le tableau clinique de la syphilis expérimentale était plus développé que chez les femelles. De plus, cette maladie est plus bénigne chez des mâles auxquels on a administré des hormones femelles (œstrogènes) que chez des mâles témoins. Ces études ont été faites avant l'application des méthodes modernes quantitatives d'évaluation de l'infection tréponémique, de sorte que les différences constatées ne sont souvent

ni tranchées ni précises. Nos propres recherches dans ce domaine, présentées en détail au chapitre 3, ont été limitées à l'effet de certaines hormones stéroïdes, surtout de la cortisone et de produits apparentés.

L'action générale de la cortisone sur l'évolution de la maladie chez l'animal et chez l'homme est maintenant bien connue. Son rôle principal est de supprimer, dans les tissus, toutes les réactions d'inflammation quelles qu'elles soient, même s'il s'agit de réactions d'hypersensibilité; à fortes doses, elle tendrait à supprimer la production d'anticorps. Au cours de l'un ou des deux mécanismes précédents, la cortisone favoriserait, chez l'animal ou chez l'homme, la croissance excessive de nombreuses bactéries.

Ces effets ont été enregistrés très tôt dans la syphilis expérimentale. L'administration de cortisone à des animaux infectés conduit à une prodigieuse multiplication de tréponèmes, à la fois dans les foyers initiaux et secondaires. En même temps, la production d'acide hyaluronique dans les lésions est augmentée; celles-ci, qui étaient compactes et souvent dures comme de la pierre, deviennent molles, spongieuses et se remplissent de substance mucoïde.

Comme nous l'avons mentionné au paragraphe précédent, ce fait constitue une preuve indirecte de la production de substance mucoïde par les tréponèmes eux-mêmes mais, malheureusement, pas catégorique. Selon une hypothèse qui n'a pas encore été vérifiée, ce laboratoire admet que dans les conditions ordinaires, cet acide hyaluronique est transformé assez rapidement en un dérivé sulfaté, ayant les mêmes propriétés que le sulfate de chondroïtine et que, sous l'influence de la cortisone, la sulfatation de l'acide hyaluronique est inhibée, provoquant ainsi les changements caractéristiques observés dans ces lésions.

On a pensé également qu'une augmentation de la quantité d'acide hyaluronique peut favoriser la croissance des tréponèmes. La défense de l'organisme pourrait par contre en pâtir, du fait que la phagocytose risque d'être inhibée par la substance mucoïde, et souvent même, la pénétration des anticorps elle-même est inhibée. C'est un fait connu que la cortisone à haute dose supprime la production de l'anticorps, mais les changements remarquables dans les lésions tréponémiques se produisent si rapidement après le début de la thérapeutique par les stéroïdes, que celle-ci ne semble pas jouer un rôle capital dans l'apparition de ces changements.

La suppression de la cortisone chez les animaux infectés expérimentalement engendre souvent le phénomène dit de «réactivation», dans lequel on note un accroissement rapide et considérable des lésions, souvent accompagné d'un développement des lésions généralisées. On peut vraisemblablement expliquer ce phénomène par la présence, dans les lésions, d'un nombre considérable de tréponèmes soustraits dès lors à l'effet suppressif de la cortisone.

Cette action de la cortisone dans les tréponématoses expérimentales a été utilisée chaque fois qu'on désire obtenir des tréponèmes en grand nombre

et préparer des antigènes tréponémiques. L'emploi de la cortisone pour augmenter la virulence des souches nouvellement isolées a été moins heureux.

### *Antibiotiques*

L'action des antibiotiques sur les infections tréponémiques a été étudiée principalement aux chapitres 6 et 9; au chapitre 3, nous nous sommes intéressés davantage aux effets accidentels dus au contact d'antibiotiques en dehors de ceux employés pour la thérapeutique ou la prophylaxie.

A cause de la complexité même de notre civilisation, il est extrêmement difficile d'empêcher que des traces d'éléments indésirables atteignent l'animal soumis à l'expérience ou même l'homme. Ce fait est vrai pour les antibiotiques, car, de temps en temps, l'un ou l'autre de ces produits est introduit par inadvertance, directement ou indirectement, dans la nourriture des animaux d'expérience. Par exemple, beaucoup d'aliments préparés contiennent des antibiotiques ajoutés volontairement ou sont à base de viande ou de lait provenant d'animaux ayant absorbé des antibiotiques. Maintes fois, nos expériences et nos tests TPI habituels ont été faussés par l'introduction d'antibiotiques, accidentelle et passée inaperçue à ce moment, dans la nourriture des animaux.

Il est intéressant de se demander dans quelle mesure les tréponématoses sont affectées par l'emploi antérieur d'antibiotiques employés sur une large échelle contre des affections non tréponémiques. Il n'est pas trop extravagant d'avancer qu'avant même la découverte des antibiotiques, certaines particularités géographiques et épidémiologiques des infections tréponémiques pouvaient provenir de l'action antagoniste de la flore bactérienne ou fongique dans certaines régions du globe.

### *Sensibilisation des tréponèmes*

Un aspect général de l'immunologie au cours de l'infection tréponémique a été présenté au chapitre 5. Nous n'avons considéré, au chapitre 3, qu'un des effets de ce mécanisme sur l'origine de l'infection. Cette action se manifeste surtout lorsque de petites quantités d'anticorps spécifiques, produits sans doute à proximité ou au niveau des lésions, s'associent intimement aux tréponèmes. Ces tréponèmes ainsi sensibilisés, qui constituent la première preuve visible d'une réponse immunologique, ont une vitalité amoindrie.

Au cours des tests pratiqués *in vitro* avec de tels tréponèmes, la simple addition de complément produit l'immobilisation des micro-organismes. Il est difficile de déterminer dans quelle mesure un phénomène semblable se produit *in vivo*, mais ce fait peut expliquer que lors du passage, chez un nouvel hôte, de tréponèmes issus d'infections anciennes, la période d'incubation est généralement plus longue que celle observée avec le même nombre de tréponèmes provenant de lésions beaucoup plus récentes.

Ce même phénomène serait en partie responsable de la difficulté rencontrée parfois pour un transfert satisfaisant de tréponèmes d'une espèce animale à une autre ou pour celui de l'homme à l'animal de laboratoire, en utilisant des germes provenant de lésions anciennes. La sensibilisation *in vivo* des tréponèmes peut également gêner la fabrication des antigènes pour les tests d'agglutination ou d'immobilisation.

#### *Influence de l'infection antérieure à cuniculi*

Comme on l'a montré dans les chapitres 7 et 8, il existe un très haut degré d'immunité croisée entre les tréponématoses humaines et la maladie naturelle du lapin causée par *T. cuniculi*. Aussi, l'infection cuniculi pré-existante, chez les lapins de laboratoire, modifie-t-elle d'une façon significative la réaction de ces animaux à l'inoculation d'autres souches de tréponèmes. Cette action expliquerait la suppression complète des lésions chez des lapins supposés normaux.

La présence de cette première infection à cuniculi est particulièrement fâcheuse pour la production d'antigènes tréponémiques utilisés dans les tests d'agglutination et d'immobilisation, car cette maladie paraît très répandue aux Etats-Unis, parmi les lapins domestiques. La perturbation semble provenir d'une production hâtive d'anticorps spécifiques dès le début de l'infection expérimentale; l'inoculum tréponémique agit comme dose supplémentaire chez les animaux qui ont, en quelque sorte, subi une infection immunisante lors de la maladie à cuniculi. Bien qu'habituellement de tels animaux réagissent négativement aux tests sérologiques courants, il est maintenant possible de les identifier par le test d'agglutination tréponémique.

#### *Autres facteurs influençant l'évolution de l'infection tréponémique expérimentale*

Nous avons également considéré, dans le chapitre 3, d'autres facteurs dont l'influence sur l'évolution de l'infection tréponémique chez le lapin est connue, tels que la race, l'âge et le sexe de l'animal, l'infection intercurrente chez l'animal infecté, et le lieu d'inoculation. Pour ce qui est de l'influence de la race, de l'âge et du sexe du lapin, peu de nouvelles recherches ont été faites dans notre laboratoire. L'influence des infections intercurrentes semble dépendre grandement de l'élévation de la température du corps de l'animal, ce qui donne lieu à un effet opposé à celui que nous avons mentionné sur les tréponèmes.

L'influence du lieu d'inoculation semble dépendre pour une grande part, sinon entièrement, des conditions locales; la peau et les testicules sont des lieux favorables parce que leur température – de plusieurs degrés au-dessous de la température interne du corps – est particulièrement propice.

L'inoculation directe de tréponèmes dans la circulation sanguine des lapins permet d'obtenir une localisation particulièrement sélective des lésions.

Bien que, avec des inoculums importants, les tréponèmes soient vraisemblablement entraînés dans toutes les parties du système vasculaire, les lésions se produisent surtout dans les parties distales des extrémités et sur les régions du corps dépourvues de fourrure. On sait que la température de ces régions est plus basse que la température interne du corps, et on en conclut que la localisation des lésions tréponémiques est largement déterminée par ce facteur.

#### Caractéristiques des tréponèmes «*in vitro*»

Puisque les tréponèmes pathogènes ne peuvent être cultivés dans un milieu artificiel, toutes les études *in vitro* concernant cet organisme doivent être faites avec un milieu contenant de grandes quantités du tissu de l'hôte, ce qui complique les recherches antigéniques et les analyses chimiques. Les méthodes et les problèmes se rapportant à ces études *in vitro* ont été examinés au chapitre 4.

On peut plus facilement obtenir un très grand nombre de tréponèmes chez le lapin, à partir des lésions testiculaires qui apparaissent après administration de cortisone. Nous avons décrit les méthodes de séparation des tréponèmes provenant des tissus de l'hôte.

De récentes études au microscope électronique (poursuivies dans d'autres laboratoires que le nôtre) confirment les premières observations sur la présence d'un filament axial et justifient la description classique de Noguchi: «La structure essentielle d'un tréponème est un filament axial, semblable à un ressort, dans une couche de protoplasme contractile contenu dans un périplaste délicat.»

Il est évident que les tréponèmes peuvent élaborer une substance capsulaire principalement constituée par l'acide hyaluronique. Le mouvement en spirale, dans un milieu visqueux, rappelle celui d'un serpent; il est rotatoire en milieu plus fluide. On a mentionné, dans des observations diverses, la coloration, la centrifugation et l'indice de réfraction des tréponèmes pathogènes.

Nous avons mis au point, dans notre laboratoire, un milieu qui permet la survie des tréponèmes pendant deux semaines et qui a été modifié par nous et par d'autres. Ce milieu est à l'origine de la découverte des anticorps tréponémiques immobilisants. L'anaérobiose est, pour ce «milieu de survie», une condition nécessaire mais non suffisante; les composés renfermant des groupements sulfhydryle semblent indispensables parce que, sans doute, ils participent directement au métabolisme des tréponèmes.

Les études *in vitro* sur la survie furent entreprises dans l'espoir d'arriver, d'une manière rationnelle, à la culture du micro-organisme en milieu artificiel. Il est possible cependant que les conditions de survie soient tout à fait différentes de celles requises pour la multiplication. Il semble, par exemple, que des facteurs tels que la baisse de température qui diminue le métabolisme

des tréponèmes tendent à prolonger leur survie, et pourtant ces mêmes facteurs peuvent être défavorables à leur croissance.

On a ajouté de nouvelles observations aux études antérieures sur la survie prolongée de tréponèmes congelés. On a remarqué que les tréponèmes de la syphilis et du pian, conservés aux environs de  $-70^{\circ}\text{C}$ , gardent leur virulence envers le lapin, après une conservation de plus de 9 ans. D'autre part, quand on congèle les tréponèmes en solution aqueuse, ils subissent une perte considérable de vitalité, due à leur détérioration, soit pendant la congélation, soit pendant la décongélation, plutôt que pendant la période de conservation. L'addition, au milieu, de glycérol à la concentration de 15% environ semble empêcher cette altération et les résultats de survie sont considérablement supérieurs à ceux obtenus en solution aqueuse. Ce même phénomène est observé avec de nombreuses autres espèces de micro-organismes.

Cependant, les altérations subies par les tréponèmes pendant la période de conservation sont fonction de la température. Les tréponèmes pathogènes congelés dans 15% de glycérol à  $-15^{\circ}\text{C}$  n'étaient pas infectieux après un mois; à  $-40^{\circ}\text{C}$ , il y avait une bonne survie mais pendant un mois et non pas deux, tandis qu'à  $-70^{\circ}\text{C}$ , une partie de ces mêmes organismes paraissait encore virulente après 9 mois.

Si l'on passe en revue toute la littérature qui s'y rapporte et les expériences de notre propre laboratoire, on peut conclure qu'il n'y a pas, actuellement, de méthode sûre pour la culture *in vitro* des tréponèmes pathogènes. Des études sur la culture du spirochète de Reiter non pathogène ont été décrites, et des illustrations montrent les formes variées de ces organismes, observées au cours des stades successifs de culture.

### Phénomènes d'immunité dans les tréponématoses

Par suite de la chronicité particulière de la syphilis, de l'équilibre précaire entre l'hôte et le parasite, de l'impossibilité de détecter rapidement les anticorps du sérum chez l'homme ou l'animal infecté, et, sans doute, à cause de la grande autorité scientifique des observations de Neisser, l'immunologie des tréponématoses, et en particulier la syphilis, fut considérée pendant de nombreuses années comme faisant exception par rapport aux autres maladies infectieuses. Les travaux de Chesney et de ses collaborateurs, de même que les études entreprises dans le même sens, dans ce laboratoire, ont eu pour résultat de faire entrer ces maladies dans le même mécanisme immunologique que d'autres infections.

Notre contribution particulière à ce vaste problème a porté plus spécialement sur les manifestations humérales de l'immunité au cours des infections tréponémiques. Une conséquence de ces études fondamentales a été la mise au point de plusieurs tests sérologiques qui jouent un rôle important en clinique, dans le traitement des malades atteints de tréponématoses, en particulier de syphilis.

*Evolution de l'état d'immunité*

Dans le chapitre 5, après avoir relaté brièvement quelques-uns des premiers travaux sur l'évolution de la résistance dans les tréponématoses, nous avons rapporté les expériences faites à ce sujet dans notre laboratoire et dans d'autres. De ces études, qui ont trait presque uniquement à la syphilis expérimentale, émergent certaines données élémentaires dont les plus importantes sont mentionnées ci-après.

Dans la syphilis, l'immunité se développe lentement, au bout d'une période qui se mesure mieux en semaines qu'en jours, comme dans la plupart des infections aiguës. Cette période dépend partiellement de la durée du processus infectieux, celui-ci déterminant l'intensité de la stimulation antigénique. Nous avons relaté les expériences réalisées dans ce laboratoire, au cours desquelles une infection minime a été maintenue 20 semaines chez le lapin sans qu'il y ait eu un indice quelconque de résistance. En d'autres termes, la simple présence d'une infection n'est pas suffisante en elle-même pour stimuler le développement de l'immunité.

La persistance de cet état dépend d'un certain nombre de facteurs. Dès que l'immunité s'est développée à son point culminant, ordinairement dans les 3 mois qui suivent le début de l'infection, une résistance élevée se maintient généralement aussi longtemps que l'infection même latente.

Cependant, la persistance de l'immunité, après disparition de l'infection par la thérapeutique, paraît être fonction du temps et du degré d'immunité atteint pendant le traitement. Par exemple, on a montré qu'un groupe de lapins traités 2 mois après l'infection, et inoculés peu de temps après la fin du traitement, présentaient une immunité beaucoup plus marquée qu'un autre groupe d'animaux infectés et traités de la même manière, mais inoculés un an après le traitement. Cependant, les animaux chez lesquels l'immunité s'est totalement développée au moment du traitement thérapeutique ne montrent, en général, aucune diminution de leur résistance après un an.

La question de latence dans les infections tréponémiques reste plutôt énigmatique. Des lapins, dont la syphilis n'a pas été traitée, peuvent montrer un haut degré d'immunité à la réinoculation, comme l'indique l'absence de lésions malgré la présence de tréponèmes virulents dans leurs ganglions lymphatiques immédiatement avant la réinoculation. Le même phénomène peut être observé avec des lapins syphilitiques immunisés et traités, chez lesquels, malgré l'absence des lésions que devrait développer la réinoculation, l'infection latente peut exister. Il est difficile d'envisager le mécanisme biologique qui est à l'origine de ce phénomène, par lequel les défenses de l'hôte sont capables d'immobiliser le parasite qui devient alors inoffensif, mais sont tout de même incapables de le détruire complètement. Les études sur les tréponèmes provenant d'animaux à syphilis latente n'ont pas révélé dans ces organismes de différences biologiques qui seraient responsables de leur apparente résistance vis-à-vis des défenses de l'hôte.

A la suite des expériences relatées ci-dessus, on a également observé, avec les techniques expérimentales utilisées, que la réinfection chez un lapin fortement immunisé se développe intensément, semble-t-il, quelle que soit l'importance de la réinoculation. Il est encore difficile d'expliquer les raisons biologiques de cette observation.

La plupart des recherches sur l'évolution du processus d'immunité dans les infections tréponémiques ont été menées à bonne fin avec la souche Nichols de *T. pallidum* et elles semblent prouver que les autres souches de tréponèmes syphilitiques se conduisent de la même manière. La même affirmation peut être faite pour les souches de tréponèmes du pian, du bétel et les groupes des tréponématoses endémiques.

#### *Manifestations humorales de l'immunité*

Notre laboratoire a prouvé que l'homme et l'animal infectés avec des tréponèmes développent des anticorps spécifiques vis-à-vis de ces micro-organismes. Il est intéressant de rappeler que Wassermann, dans ses premières expériences sur la sérologie syphilitique, recherchait une source abondante de tréponèmes pouvant servir d'antigène spécifique et, dans ce but, utilisait le foie du fœtus hérédo-syphilitique. La présence, dans un tissu normal, de la même substance ou d'un antigène croisé soluble dans l'alcool, a conduit à l'utilisation de celui-ci, plus commode mais peut-être moins spécifique, comme antigène de diagnostic. L'étude approfondie, durant plusieurs années, de l'antigène tissulaire, a abouti à l'identification d'une fraction phospholipidique sérologiquement active, présente dans le tissu normal. Il y a peu d'années, on a repris l'étude du tréponème lui-même en tant qu'antigène actif, complétant ainsi les recherches de Bordet-Wassermann et de leurs collaborateurs.

Les premiers travaux de notre laboratoire sur l'aspect général de l'immunité humorale aboutirent à démontrer l'effet inhibiteur du sérum animal ou humain syphilitique sur le développement des lésions lorsque le mélange *in vitro* de ce sérum et de tréponèmes est inoculé aux animaux d'expérience. La mise au point d'une méthode *in vitro* conservant aux tréponèmes leur mobilité durant plusieurs jours a permis d'observer les effets du sérum normal ou immun sur ces micro-organismes, sans avoir recours à la méthode moins pratique de l'inoculation. De ces faits découle le test d'immobilisation tréponémique (TPI) qui a été largement utilisé, à la fois en médecine clinique et pour l'étude de certains aspects fondamentaux des tréponématoses.

Considéré du point de vue biologique, le test TPI détecte d'une façon nette un anticorps différent de celui de Wassermann. Chez la plupart des malades atteints de tréponématose et chez un grand nombre d'animaux infectés expérimentalement, ces deux anticorps sont présents en même temps quoique en proportions différentes.

Il est certain que l'anticorps immobilisant est un indicateur hautement spécifique de l'infection tréponémique passée ou présente; il a été également produit par l'injection de tréponèmes tués. Ceci est une preuve obtenue principalement par l'étude de la maladie expérimentale, que l'anticorps tréponémique immobilisant joue un rôle significatif dans l'immunité. Cependant, on observe quelquefois une contradiction marquée entre la présence d'une immunité et la production d'anticorps immobilisant, ce qui indiquerait que cet anticorps n'est peut-être pas le seul facteur intervenant dans le processus de l'immunité.

Au point de vue clinique, il est prouvé que le test TPI apporte une aide notable dans le traitement des infections tréponémiques et même, dans certains cas, il peut être utilisé largement pour l'étude des processus de maladies chroniques différentes.

Du fait que l'anticorps de Wassermann apparaît quelquefois chez l'homme, malgré l'absence de preuves cliniques et épidémiologiques d'une infection tréponémique passée ou actuelle, le test TPI se révèle un test sûr pour identifier ces réactions biologiques de Wassermann dites faussement positives. On pense que la présence de quantités décelables d'anticorps de Wassermann chez des personnes qui n'ont jamais été infectées par des tréponèmes indiquerait une autre maladie en incubation. Toutefois, au moment où nous écrivons, nous n'avons que peu de connaissances dans ce domaine.

Par suite des complications techniques du test TPI, des recherches approfondies ont été entreprises dans ce laboratoire pour trouver d'autres méthodes qui décèleraient l'anticorps spécifique vis-à-vis des tréponèmes pathogènes. Parmi les essais effectués, il y a eu *a*) les tentatives pour simplifier le test TPI sans toutefois obtenir des résultats satisfaisants; *b*) l'étude du phénomène d'agglutination tréponémique en tant que réaction spécifique antigène-anticorps; et *c*) l'étude des phénomènes d'adhérence. De plus, des essais dans d'autres laboratoires pour obtenir une fraction chimique sérologiquement active, à partir de tréponèmes pathogènes, semblent avoir eu, jusqu'ici, quelque succès.

Avec l'usage de la cortisone, qui stimule la croissance des tréponèmes *in vivo*, et l'amélioration des méthodes d'extraction et de séparation des tréponèmes de fragments de tissus, il a été possible d'obtenir une suspension tréponémique fortement concentrée, qui convient aux études sur l'agglutination.

Ces tréponèmes, quand ils sont tués par la chaleur, s'agglutinent, à la fois avec l'anticorps de Wassermann et avec un autre anticorps spécifique qui semble analogue à l'anticorps tréponémique immobilisant. Dans le test d'agglutination préparé par ce laboratoire, l'anticorps Wassermann est d'abord enlevé du sérum par absorption avec un antigène cardiolipidique ou du cœur de bœuf pulvérisé, l'anticorps spécifique reste alors seul pour réagir dans le test d'agglutination.

Des difficultés ont été rencontrées dans la préparation des antigènes agglutinables du fait que certains lots sont satisfaisants, d'autres pas. On n'a pas complètement identifié les facteurs qui interviennent dans ces résultats. Si le test d'agglutination a permis d'approfondir nos connaissances, il n'est malheureusement pas assez standardisé pour être appliqué comme méthode courante de diagnostic. Cependant, la simplicité de sa technique le recommande dans la pratique, à condition que les principales difficultés soient surmontées.

Le phénomène d'immune-adhérence décrit par notre laboratoire et confirmé par d'autres chercheurs se produit par addition de tréponèmes aux globules rouges, au complément et au sérum humain. Si le sérum contient des anticorps spécifiques, les tréponèmes adhèrent aux globules rouges, semble-t-il, et, après centrifugation, disparaissent du liquide surnageant, tandis qu'ils restent en suspension dans les mélanges contenant un sérum normal.

Les expériences de notre laboratoire indiquent que l'adhérence des globules rouges est une manifestation du type de la réaction d'adhérence décrite par Rieckenberg, entre les trypanosomes et les anticorps spécifiques, en présence de complément. On a mis en évidence cette adhérence entre les tréponèmes, les stromas d'hématie et les plaquettes sanguines chez l'homme, le lapin et le cobaye; entre les particules colloïdales, les bactéries comme *Escherichia coli*, *Alkaligenes faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *S. lactis* et *Spirillum rubrum*, en présence du complément et de l'immunsérum syphilitique. Cependant, les difficultés inhérentes à des systèmes aussi compliqués n'ont pas été examinées à fond et il reste à étudier les possibilités et les limites de ce test.

Les rapports publiés sur l'utilisation des fractions chimiques sérologiquement actives des tréponèmes pathogènes ne sont pas assez concluants.

En conclusion, on notera que des méthodes récentes d'extraction de tréponèmes ont permis la mise au point de meilleurs antigènes pour les tests cutanés. Bien que ces recherches n'en soient qu'à leur début, elles confirment déjà et renforcent les observations antérieures suivant lesquelles la majorité des anciens syphilitiques présentaient une réaction cutanée positive rappelant celle à la tuberculine, tandis que la plupart des syphilitiques récents – ainsi que les sujets sains – ne réagissaient pas.

### Réponses des tréponèmes aux médicaments

Pour comparer l'efficacité de divers produits, en particulier des antibiotiques, sur les organismes tréponémiques ainsi que la réponse des différentes souches de tréponèmes au même antibiotique (chapitre 9), il a fallu mettre au point des méthodes d'essai moins coûteuses et moins longues que celles qui étaient appliquées jusqu'alors.

Des méthodes *in vivo* et *in vitro* ont été utilisées dans notre laboratoire; bien que ces procédés, décrits au chapitre 6, aient une précision limitée, ils paraissent aussi bons que ceux utilisés jusqu'à présent et ils ont l'avantage d'être plus simples et moins coûteux.

Avec la méthode *in vivo* pratiquée dans ce laboratoire, les lésions tréponémiques sont produites par l'inoculation intradermique des micro-organismes à étudier. Quand ces lésions ont atteint leur développement maximum, on compte, en examinant sur fond noir les éléments provenant directement des lésions, le nombre de tréponèmes avant et après l'administration de doses variables de l'antibiotique à tester. On fait des lectures précises, habituellement 24, 48 et 72 heures après l'administration de la première dose de médicament.

La méthode *in vitro* employée pour certaines bactéries a été prise comme modèle, quoique son adaptation à l'étude des tréponèmes nécessite des techniques spéciales et assez compliquées. Elle consiste essentiellement à extraire les tréponèmes pathogènes des testicules de lapins, à les séparer le plus possible des débris de tissu et à les conserver dans un milieu qui assurera leur mobilité pendant 18 à 24 heures. L'antibiotique à essayer est introduit dans cette préparation. Le but est atteint quand la concentration de ce produit immobilise (et probablement tue) 50% des tréponèmes avant un laps de 18 heures. Cette méthode a été principalement utilisée pour déterminer la sensibilité de souches différentes de tréponèmes vis-à-vis de doses variées de pénicilline; les résultats sont consignés au chapitre 9.

Avec le procédé *in vivo* que nous venons de relater, divers antibiotiques et un certain nombre d'autres agents thérapeutiques ont été testés vis-à-vis de la souche Nichols de *T. pallidum*. Parmi les diverses pénicillines utilisées, la pénicilline G a été nettement plus active que les pénicillines F et X, et beaucoup plus que la K. Il est intéressant de noter que les résultats obtenus par cette rapide méthode d'essai *in vivo* étaient semblables à ceux fournis par une expérimentation plus longue et plus coûteuse.

Les essais effectués avec cette technique ont montré que si la pénicilline était plus active que les nouveaux antibiotiques, certains de ces derniers possédaient une action thérapeutique significative envers la souche Nichols de *T. pallidum* et même, d'après les études *in vitro* mentionnées au chapitre 9, vis-à-vis d'autres souches de tréponèmes.

Parmi les nouveaux antibiotiques testés, la Magnamycine était la plus active, tandis que l'Auréomycine, la Terramycine et l'érythromycine étaient thérapeutiquement actives à des doses 100 fois plus fortes que celles de la pénicilline, exprimées en mg par kg de poids du corps. La Chloromycétine et la streptomycine, d'autre part, n'étaient que légèrement actives en quantités beaucoup plus importantes. La Magnamycine et la pénicilline, utilisées ensemble, ont un effet synergique.

Etant donné le grand nombre d'antibiotiques qui ont une action bactéricide ou tout au moins inhibitrice sur les tréponématoses, il est probable que

ces infections sont constamment soumises à un effet thérapeutique, si minime soit-il. Le rôle joué par ces substances dans la lutte contre ces maladies ou leur modification est difficile à préciser. Actuellement, l'usage très largement répandu de la pénicilline dans de nombreux pays aussi bien en médecine que dans d'autres domaines peut modifier profondément le tableau épidémiologique et même clinique de ces maladies.

En plus de l'emploi d'antibiotiques dans le traitement des maladies humaines, on ne doit jamais perdre de vue que ces produits sont maintenant utilisés dans les industries laitières, en zootechnie et en aviculture, de sorte que, finalement, le lait et la viande, dans certaines régions, tout au moins, contiennent souvent des traces de ces substances. Encore une fois, on peut supposer que le fait d'être exposé à de minuscules traces d'antibiotiques pendant très longtemps peut modifier le tableau de la maladie tréponémique. Il est parfaitement possible que des changements fondamentaux puissent ainsi survenir dans une souche de tréponèmes; mais des données précises sur ce point seront extrêmement difficiles sinon impossibles à acquérir.

Des expériences pour détecter une résistance éventuelle des différentes espèces de tréponèmes à l'égard de la pénicilline n'ont fourni aucune indication ou sur l'existence ou la virtualité de ce processus. On sait que certains micro-organismes, en particulier les staphylocoques, développent rapidement des formes résistantes, probablement à la suite de mutation sélective, tandis que d'autres germes, comme les streptocoques hémolytiques, manifestent peu ou pas de résistance envers la pénicilline dans des conditions naturelles ou expérimentales. Ce serait un heureux hasard si, sous ce rapport, les tréponèmes se comportaient comme ce deuxième groupe d'organismes.

Les études concernant le mode d'action de la pénicilline sur les tréponèmes pathogènes n'ont pas révélé la nature fondamentale de ce phénomène, mais ont cependant fourni des renseignements utiles. A la suite d'expériences *in vitro*, on a constaté que l'effet tréponémicide ne s'exerçait pas avant un minimum de 4 heures quelle que soit la dose de pénicilline. Au-delà de ce laps de temps, l'activité de la pénicilline est fonction de la concentration de l'antibiotique et de la température.

Dans le cas du staphylocoque, on sait que la pénicilline agit plutôt sur les organismes qui ont un métabolisme intense que sur ceux qui sont plus ou moins au stade de repos. On ne dispose pas de données certaines sur ce point chez les tréponèmes. Etant donné que toutes les suspensions d'organismes tréponémiques pathogènes proviennent de tissus animaux, on admet que chaque suspension peut contenir des tréponèmes à des stades différents de croissance et de reproduction. Tous les tréponèmes cependant paraissent sensibles à la pénicilline lorsque celle-ci est à doses suffisamment élevées; avec des quantités limites de pénicilline, il y a un laps de temps considérable entre l'immobilisation des premiers et des derniers tréponèmes, mais on ne connaît pas encore le ou les facteurs qui provoquent cette différence de sensibilité.

De ces expériences *in vitro* et *in vivo*, il ressort que la pénicilline exerce un effet létal sur les tréponèmes sans opérer la lyse totale. Il est vrai qu'on observe couramment, après une thérapeutique appropriée à la pénicilline, une réduction marquée du nombre des tréponèmes dans les lésions de l'homme ou des animaux d'expérience. Néanmoins, chez les animaux infectés, traités à la cortisone et dont les lésions renferment une grande quantité de substance mucoïde, la pénicilline immobilise les tréponèmes et probablement les tue sans beaucoup diminuer leur nombre. Ces faits laissent à penser que l'action essentielle de la pénicilline n'est pas de provoquer la lyse; on admet que les tréponèmes morts sont normalement éliminés des lésions par phagocytose, laquelle est inhibée chez les animaux traités à la cortisone par suite de l'accumulation de substance mucoïde et de la réduction du nombre des phagocytes.

## II. ÉTUDE COMPARÉE DES SOUCHES DE TRÉPONÈMES

### Comparaison des divers aspects de la maladie expérimentale provoquée par des souches différentes de tréponèmes

Depuis plusieurs années, de nombreux chercheurs, dans notre laboratoire et dans d'autres, ont observé des différences qualitatives dans le tableau de la maladie provoquée chez le lapin par différentes souches de tréponèmes. Ces différences ont été examinées au chapitre 7.

D'une part, il y a des souches qui, inoculées soit par voie intratesticulaire, soit par voie intradermique, déterminent, de façon très régulière, des lésions étendues caractérisées par une induration du tissu ayant parfois une consistance cartilagineuse. Ce genre de réaction chez le lapin a été dénommée type syphilis, ou Sr, car elle a été d'abord observée avec des souches provenant de cas typiques de syphilis acquise par voie vénérienne. D'autre part, il y a les souches de tréponèmes qui ne déterminent habituellement que de petites lésions après inoculation intratesticulaire ou intradermique; ces lésions présentent rarement l'induration dont on a parlé ci-dessus. En outre, on observe souvent, après l'inoculation intratesticulaire, un aspect granuleux particulier à la surface du testicule. Ces dernières souches sont plus difficiles à conserver chez les lapins et, dans l'ensemble, peuvent être clairement distinguées, par tous les observateurs, des souches syphilis, du type Sr. Cette réaction a été désignée comme du type pian, ou Yr, ayant été souvent observée chez des lapins inoculés avec des souches de tréponèmes provenant de lésions typiques causées par *T. pertenuis*. Les souches de tréponèmes qui paraissent intermédiaires entre les types Sr et Yr ont été désignées comme type Mr.

Des réactions différentes ont été également observées chez les hamsters infectés par diverses souches. La souche Nichols de la syphilis et plusieurs autres souches isolées à partir des lésions typiques de syphilis vénérienne ne

produisent d'habitude pas de lésion au point d'inoculation intradermique quoique les ganglions lymphatiques renferment de nombreux tréponèmes. Cet aspect de la maladie chez les hamsters a été dénommé type Sh. Par contre, les souches de tréponèmes isolées sur des malades de l'ouest des Samoa (Polynésie) présentant les caractéristiques du pian déterminent, chez les hamsters, des lésions étalées au point d'inoculation intradermique, avec peu ou pas de tréponèmes dans les ganglions lymphatiques régionaux. Cette manifestation de la maladie chez les hamsters a été désignée, peut-être arbitrairement, type Yh. Un troisième type de réaction, qui a des points communs avec chacun des deux types précédents, est caractérisé à la fois par des lésions importantes au point d'inoculation intradermique et par de nombreux tréponèmes dans les ganglions lymphatiques. Cet aspect de la maladie a été désigné comme du type Mh, et observé avec plusieurs souches isolées sur des malades atteints de pian et avec toutes les autres souches isolées sur des malades atteints de syphilis endémique, bétel et dichuchwa. Les tréponèmes cuniculi provenant de l'infection naturelle du lapin semblent présenter, aussi bien chez ce dernier que chez le hamster, un tableau clinique un peu différent des précédents, mais les études sur ce groupe ne sont pas terminées. Cette espèce a été classée comme type C.

Cherchant à utiliser ces indices pour obtenir des données quantitatives, on a étudié chacune des 17 souches de tréponèmes récemment isolées ainsi que des espèces anciennes de laboratoire, en fonction du type de réaction qu'elle détermine chez le lapin et le hamster. On trouvera un résumé de ces résultats au tableau XLVII, page 205.

Mais le sujet est d'autant plus ingrat, sans doute, que chacune de ces souches ne correspond pas exactement à la classification que nous avons proposée. Bien que, dans l'ensemble, il y ait concordance entre les syndromes cliniques et épidémiologiques de la maladie expérimentale et ceux des cas dont les souches ont été isolées, la classification des réactions n'est pas la même chez le lapin et le hamster. Ainsi, 3 seulement des 4 souches isolées sur des malades atteints de syphilis acquise par voie vénérienne se conforment au type S à la fois chez le hamster et le lapin; et 3, sur 7 souches isolées à partir de cas de pian, ont provoqué les lésions typiques de cette maladie chez les deux espèces d'animaux d'expérience. On peut affirmer que plusieurs autres souches syphilitiques isolées chez des malades d'Amérique du Nord ou de la Jamaïque (voir tableaux IA et IB, chapitre I, pages 21, 22), mais non comprises dans cette étude, se conforment au type Sr tel qu'on l'observe chez les lapins, mais beaucoup d'entre elles n'ont jamais été étudiées chez le hamster.

Il existe donc des différences mal définies, mais réelles, de certains caractères biologiques de ces tréponèmes. D'ailleurs, de tels caractères semblent assez stables, bien que le passage rapide d'une grande quantité de tréponèmes de type Yr conduise souvent à une proportion croissante des lésions du type Mr ou Sr. L'origine de ces différences n'est pas claire et nous

ne connaissons pas non plus les circonstances qui ont amené leur développement. Il y a quelque raison de penser que la cause de ces différences chez le lapin réside dans la capacité de production d'acide hyaluronique par le tréponème; en général, il y a plus d'acide hyaluronique dans les lésions du type Sr. Les mêmes hypothèses ne permettent pas d'expliquer les différences de comportement de ces souches chez le hamster.

L'étude histopathologique des lésions déterminées par chacune des souches de tréponèmes n'augmente que peu les connaissances acquises par l'observation macroscopique chez le lapin et le hamster. Il n'y a pas de différences qualitatives dans la réponse du tissu aux différentes souches, qu'on ne peut distinguer en se basant seulement sur l'histologie. Néanmoins, on remarque des différences quantitatives nettes et celles-ci semblent une conséquence des quantités d'acide hyaluronique produit par les tréponèmes. Par conséquent, les quantités relatives de substance à coloration métachromatique et d'infiltration cellulaire présentes dans les lésions peuvent être également une indication sommaire pour la classification des souches.

Des observations ont porté sur la variation et la mutation des souches qui subissent des passages répétés chez des animaux de laboratoire. Une infection accidentelle au laboratoire a révélé qu'une souche Nichols de la syphilis était encore pathogène pour l'homme 42 ans après son isolement initial sur le lapin.

Après des passages successifs et rapprochés sur l'animal, la plupart des diverses espèces de tréponèmes présentent une virulence accrue pour le lapin, de sorte que la période d'incubation devient plus courte et la lésion plus grande et plus indurée. Les germes du pian tendent à produire, en plus grande proportion, des lésions identiques à celles de la syphilis ou des lésions du type intermédiaire; rien n'indique, généralement, que ces perturbations soient le reflet d'une altération permanente survenue dans les caractères essentiels de la souche. De même, le maintien chez des lapins soumis à une température ambiante élevée de deux souches syphilitiques typiques subissant pendant une année 10 passages successifs n'a pas réussi à provoquer de modifications visibles chez ces souches inoculées ensuite à des animaux maintenus à une température basse.

On a, cependant, observé, dans deux cas, des changements qu'on suppose analogues à des mutations, chacun d'eux concernant la conversion d'une espèce pian en espèce syphilis. La première observation a été faite par Chesney avec la souche Y9, isolée à Haïti. Celle-ci a été propagée sur lapins, durant 3 ans, par 9 passages, les transferts étant réalisés à partir des ganglions lymphatiques de lapins atteints d'infection ancienne; en conséquence, les lésions provoquées par deux souches dérivées présentaient des caractères rappelant ceux des lésions déterminées par une souche syphilitique isolée, elle aussi, à Haïti.

La seconde observation de cette nature concernait notre souche YD. Au 16<sup>e</sup> passage, celle-ci produisit, chez certains lapins, des lésions qui ressemblaient à celles de la syphilis; la réaction chez les hamsters, à ce

moment, était du type Mh, souvent produite par la souche pian. Une lignée dérivée, YD-post-1949, provenant des ganglions lymphatiques d'un animal occasionna, au 26<sup>e</sup> passage, 27 mois après le début de l'infection pseudo-syphilitique, des réactions du type syphilis pour tous les transferts qui ont suivi, aussi bien chez le lapin que chez le hamster.

On peut donc penser que l'infection de longue date, chez le lapin, tend à favoriser, parmi les populations de tréponèmes pianiques, les germes qui présentent des caractères des tréponèmes syphilitiques.

### Parenté antigénique entre les souches de tréponèmes

La comparaison des souches de tréponèmes récemment isolées est poursuivie au chapitre 8, les recherches ayant été dirigées ici vers l'étude de la parenté antigénique existant entre des souches ou des groupes de souches. Les méthodes utilisables pour de telles recherches sont imparfaites en regard de celles pratiquées pour l'étude d'autres organismes – imparfaites surtout parce que les tréponèmes pathogènes ne peuvent être obtenus qu'à partir de tissus de mammifères et que les suspensions de tréponèmes les plus « purifiées » contiennent encore de trop grandes quantités d'éléments cellulaires de l'hôte.

En dépit de ces restrictions, on a obtenu des renseignements utiles, d'une part, grâce aux études d'immunité croisée et, d'autre part, par la réalisation *in vitro* des réactions antigène - anticorps.

*Parenté mise en évidence par les études sur l'immunité croisée.* Les études d'immunité croisée ont été faites principalement en testant des souches de tréponèmes récemment isolées, par rapport à une seule souche « étalon » – la souche Nichols des tréponèmes syphilitiques – en partant de l'idée que les souches qui présenteraient une certaine immunité croisée avec la souche Nichols en montreraient également entre elles. Même avec un système aussi simplifié, les tests d'immunité croisée effectués sur des lapins sont longs et coûteux, ce qui limite les recherches et la possibilité d'obtenir des résultats concluants.

Le résultat le plus frappant de ces études a été peut-être de démontrer clairement l'existence d'une certaine immunité réciproque entre tous les tréponèmes pathogènes étudiés, aussi bien entre les agents de la maladie naturelle du lapin (spirochétose non vénérienne) et ceux de la syphilis humaine. On peut donc conclure, sans aucune équivoque, que toutes les souches de tréponèmes étudiées ont des constituants antigéniques communs.

Le degré de protection croisée varie d'une souche à l'autre; en dépit des limites des méthodes de tests, celles-ci ont pu fournir quelques données sur les parentés qualitatives. Il est évident par exemple qu'il existe entre les souches cuniculi et la souche Nichols une immunité croisée plus faible qu'entre

cette dernière et les autres espèces de tréponèmes qui ont été testées. On ne peut pas toujours connaître, d'une façon certaine, l'importance des facteurs quantitatifs, étant donné, qu'en général, les souches syphilitiques donnent une meilleure immunité vis-à-vis des souches cuniculi que celles-ci à l'égard des premières.

Vingt-trois souches provenant de malades atteints de syphilis acquise par voie vénérienne, dont la plupart vivaient en Amérique du Nord, ont été testées dans notre laboratoire, vis-à-vis de la souche Nichols. Dix-huit d'entre elles présentaient un degré élevé de protection croisée; pour 2, les résultats furent équivoques ou insuffisants, tandis que 3 souches des Etats-Unis manifestaient une réaction croisée nettement plus faible. Les expériences d'autres laboratoires, quoique moins étendues sous ce rapport, indiquent aussi que la plupart des souches syphilitiques présentent une bonne immunité croisée entre elles. Il semblerait vraisemblable de résumer ces faits en disant que la grande majorité des espèces syphilitiques possèdent une parenté antigénique suffisante pour donner, chez le lapin, une immunité croisée qui se manifeste lors d'une inoculation d'épreuve. Il existe, cependant, des souches dont la parenté antigénique est plus éloignée que celle de la majorité.

Les données sur les réactions d'immunité croisée des souches de pian sont beaucoup moins étendues, mais elles laissent à penser qu'il existe une bonne immunité réciproque entre ces souches.

La plupart de nos souches récemment isolées ont été testées par rapport à la souche Nichols. Les renseignements sont peut-être insuffisants pour permettre de caractériser définitivement la parenté immunologique avec cette souche particulière. Mais quand les agents pathogènes obtenus à partir d'un syndrome clinique donné ou d'une contrée géographique déterminée sont classés dans un groupe (tableau LVII, page 231), les résultats de ces tests prennent une signification plus nette.

La souche Nichols, par exemple, présente sans exception un haut degré de protection croisée vis-à-vis des souches de syphilis. Cependant, des lapins infectés avec la souche Nichols ont montré une immunité beaucoup plus faible lors d'une réinfection avec un groupe de 6 souches de pian nouvellement isolées, bien que vis-à-vis de 2 d'entre elles, il y ait eu une réaction satisfaisante parmi le petit nombre d'animaux mis à l'épreuve. Il est intéressant de noter aussi que cette protection était incomplète vis-à-vis de chacune des 3 souches de béjel employées pour la réinfection, tandis qu'elle était élevée à l'égard des 2 souches de syphilis endémique et des 2 souches de dichuchwa.

Quant aux espèces cuniculi, bien qu'il existe une certaine immunité croisée entre 2 d'entre elles et la souche Nichols ou d'autres souches de syphilis ou de pian, cette immunité n'est pas très élevée.

Afin d'étudier la parenté antigénique entre les souches cultivées de tréponèmes et les variétés pathogènes, des lapins ont été soumis à de nombreuses injections avec les premiers organismes et réinfectés avec de petites quantités

de la souche Nichols. On n'a pas observé de réactions nettes d'immunité croisée.

Aussi, bien qu'il n'y ait rien de précis à conclure de toutes les expériences sur l'immunité croisée décrites au chapitre 8, il est possible de tracer quelques lignes générales. De même que les souches de tréponèmes diffèrent entre elles par leur aptitude à déterminer un aspect caractéristique de la maladie chez le lapin ou le hamster, elles peuvent également différer par leur aptitude à provoquer une protection croisée chez le lapin; de plus, d'une manière générale, leurs propriétés antigéniques varient de la même façon que les mécanismes biologiques qui déterminent les réactions tissulaires.

Avant d'abandonner ce sujet, il faut rappeler un fait digne d'attention: la tréponématose naturelle du lapin – si un terme semblable peut être employé lorsqu'il s'agit d'une maladie chez un animal – est en rapport étroit avec les tréponématoses humaines, non seulement par de nombreux caractères biologiques, mais par l'immunité croisée qu'elle suscite, à un degré appréciable, envers la syphilis et d'autres tréponèmes pathogènes.

Comme il a été rapporté aux chapitres 2 et 8, nous avons été très intéressés par les virtualités que représente cette parenté, et nous nous sommes efforcés d'explorer certains problèmes pratiques qui s'y rapportent. Les études à ce sujet n'ont pu être menées à bien, car nous estimons que c'est sur les singes et plus particulièrement les singes supérieurs qu'il faudrait chercher la solution de ces problèmes. Les conditions, dans lesquelles nous travaillons, ne nous permettent guère de recourir à cette méthode. Si des conditions favorables à l'expérimentation sur les singes devaient être réalisées, il y aurait intérêt à poursuivre l'étude de certains de ces problèmes.

#### *Parenté mise en évidence par les tests sérologiques*

Comme nous l'avons signalé aux chapitres 5 et 8, aucune différence n'a été observée dans le titre en anticorps de Wassermann vis-à-vis des diverses souches de tréponèmes.

Nous n'avons pas non plus décelé de différences nettes entre ces souches, en utilisant les tests d'immobilisation et d'agglutination. La technique du test quantitatif TPI n'est pas suffisamment précise pour fournir des résultats entièrement satisfaisants qui puissent être reproduits. D'autre part, le test TPA utilise le même antigène pour différentes opérations et donne des résultats satisfaisants et reproductibles. Même dans ce cas, aucune différence constante n'a été remarquée. Des antigènes de type pour le test d'agglutination ont été préparés à partir des souches de syphilis, de pian, de bétel et de cuniculi; les sérums des lapins infectés avec la plupart des nouvelles souches ont été testés avec ces antigènes. Alors que le taux d'agglutination variait d'un sérum à l'autre, il n'y a pas eu de modification du titre en fonction du type d'antigène utilisé, sauf dans le cas de l'antigène cuniculi. La détermination simultanée des taux d'agglutination et d'immobilisation sur les sérums de

lapins infectés avec *T. cuniculi* a montré, en général, des titres plus élevés avec les antigènes cuniculi et plus faibles avec les antigènes syphilis, pian et bétel. Il y aurait une tendance vers une parenté contraire à celle des sérums d'animaux infectés avec les tréponèmes de la syphilis, du pian, du bétel et de la syphilis endémique.

### Comparaison de la sensibilité à la pénicilline des souches de tréponèmes

Comme on l'a expliqué au chapitre 9, des méthodes *in vivo* et *in vitro* ont été employées pour déterminer la sensibilité des nouvelles souches de tréponèmes à la pénicilline. Quoique ces méthodes soient sujettes à des variations importantes, on peut résumer brièvement les recherches entreprises en signalant que les résultats expérimentaux n'ont décelé aucune différence dans la sensibilité des diverses souches testées vis-à-vis de la pénicilline.

Les procédés expérimentaux ont été considérés comme précis, les variations étant de l'ordre du simple au triple. Puisque la plupart des traitements comportant la pénicilline utilisent un excès de ce produit, on a conclu, des résultats expérimentaux obtenus, qu'un traitement qui s'est révélé efficace chez l'homme, vis-à-vis d'un seul syndrome, aura également une action thérapeutique contre les autres syndromes tréponémiques.

Il faut souligner aussi que les données concernant la dose efficace maximum de pénicilline sont peut-être plus précises que celles ayant trait à la quantité minimum efficace d'antibiotique. En d'autres termes, bien que toutes les souches aient été sensibles à la posologie qui s'est montrée active sur la plupart des souches, il se peut que certaines d'entre elles répondent de la même façon à des quantités nettement inférieures de pénicilline.

### III. CONCLUSIONS

Dans cette monographie, nous nous sommes intéressés aux études sur la biologie fondamentale des tréponématoses, en particulier à celles qui ont été effectuées à l'International Treponematoses Laboratory Center de Johns Hopkins University. Bien que ces travaux soient très étendus, l'intérêt n'a pas porté de façon égale sur tous les aspects du problème. Mais, ces réserves faites, un schéma se dégage, imprécis encore pour certains détails, mais solide en ce qui concerne la biologie fondamentale de ce vaste ensemble de maladies.

Ce tableau diffère, sous certains rapports, de celui qui aurait pu être présenté dix à vingt ans auparavant. La principale conséquence de cette réorientation est de rapprocher plus étroitement les maladies tréponémiques des autres processus infectieux. Ces travaux sur les tréponématoses ne se sont pas éloignés du courant principal de la recherche médicale et biologique; ils en font partie intégrante, empruntant à d'autres champs d'expériences et

leur apportant leur contribution. Nous pouvons espérer que cet échange fructueux de connaissances nouvelles se maintiendra.

Il est clair que, sauf dans le cas de la pinta, maladie tréponémique que nous n'avons pu étudier faute d'avoir pu la reproduire avec succès chez les animaux de laboratoire, les tréponèmes responsables de syndromes tréponémiques chez des hôtes expérimentaux se comportent suivant un processus qui peut varier dans les détails mais reste le même dans les grandes lignes. Très peu de micro-organismes, peut-être même un seul tréponème, suffisent à provoquer l'infection. La multiplication se fait d'ordinaire régulièrement, bien qu'à un rythme lent, et des lésions nettement décelables sont produites par la masse des tréponèmes en croissance. La réaction immunologique de l'hôte qui, dans ses traits essentiels, semble analogue à celle qui survient au cours d'autres maladies infectieuses, commence à se développer précocement, s'accroît lentement et atteint un degré favorable à l'hôte mais insuffisant pour le débarrasser complètement des tréponèmes qui l'envahissent. L'équilibre entre l'hôte et le parasite peut être extrêmement subtil; de larges fluctuations semblent être la règle générale plutôt que l'exception.

Des facteurs plus ou moins étrangers agissent sur cet équilibre; certains, la température par exemple, appartiennent au milieu ambiant; d'autres, comme les antibiotiques, s'interposent artificiellement entre le parasite et l'hôte. Les possibilités d'adaptation du tréponème pour n'être pas bien connues n'en sont pas moins réelles, aussi doit-on être prudent en avançant que l'équilibre établi artificiellement en faveur de l'hôte persistera ainsi pendant longtemps; une attention constante sur les possibilités de mutation des tréponèmes devrait être à l'ordre du jour.

Ces mécanismes d'adaptation qui jouent à la fois chez l'hôte et le parasite ont été suggérés par l'étude des aspects cliniques et épidémiologiques variés des syndromes tréponémiques et confirmés par les données biologiques fondamentales qui ont résulté des études expérimentales. Il est hors de doute que les souches de tréponèmes provenant de malades présentant des syndromes divers diffèrent par certains caractères biologiques assez stables.

Les conséquences de cette action réciproque entre le parasite et l'hôte au cours des siècles, dans des circonstances différentes par leurs caractéristiques physiques et écologiques, se sont traduites non seulement par des modifications de l'hôte humain – toutefois légères et difficiles à mesurer – mais également par des variations de l'organisme tréponémique. L'aspect le plus étonnant de la situation n'est peut-être pas qu'il y ait des variations entre les tréponèmes, mais que, durant des générations innombrables en ligne directe, des souches aient survécu, entre lesquelles ces différences sont restées légères.

Les tréponèmes pathogènes que nous avons pu étudier *in vivo* et *in vitro* dans ce laboratoire ont des caractères biologiques très étroits tant dans l'aspect clinique de la maladie qu'ils provoquent chez l'homme et les animaux

d'expérience que dans les réactions immunologiques et vis-à-vis des antibiotiques. Comme nous l'avons déjà dit, on a cependant observé des différences relativement constantes. Elles concernent surtout le type de lésions produites chez le lapin, l'allure de l'infection chez le hamster et certaines manifestations immunologiques qui surviennent lors de la réinfection du lapin.

En se basant sur ces critères, on a classé dans une des trois catégories suivantes – avec quelques empiètements inexplicables – les tréponèmes provenant de diverses régions du globe: *a*) le type S comprenant la plupart des espèces qui déterminent, chez les malades, le syndrome classique de la syphilis acquise par voie vénérienne; *b*) le type Y comprenant la plupart des souches provenant de malades qui présentent le syndrome classique du pian; *c*) le type M qui révèle des caractères intermédiaires entre ceux des types S et Y. Il englobe la plupart des espèces isolées chez des malades présentant les syndromes du béjel, de la syphilis endémique et de la dichuchwa. Les tréponèmes provenant de lapins atteints d'une infection naturelle par *T. cuniculi* devraient sans doute être placés dans une quatrième catégorie qui serait représentée par le type C. Des tests sérologiques comprenant des tests d'agglutination et d'immobilisation tréponémiques n'ont pas réussi à révéler des différences sérologiques entre les types S, Y et M et n'ont mis en évidence que des différences qualitatives entre ces trois types et le type C. Il est clair que les tests détectent les antigènes qui sont communs à plusieurs types.

En nous basant sur une observation limitée, nous pensons qu'une différence biologique fondamentale existe réellement entre ces types, résidant dans le caractère et la quantité de mucopolysaccharide capsulaire produit par chacune des espèces. Au cours des passages successifs qui favorisent le tréponème chez l'hôte, nous avons constaté, dans les conditions expérimentales, une production accrue de substance mucoïde et une orientation vers la réaction du type S. Jusqu'à quel point de pareils changements, soit vers le type S, soit vers les types Y ou C, se produisent-ils réellement dans la nature? C'est là matière à conjecture.

Que nous réserve l'avenir? Dans quel sens poursuivre les recherches qui seraient les plus utiles? Il est en général ingrat pour un homme de science de faire des prédictions, et pourtant on peut dire, avec quelque assurance, que sans un minimum de recherches expérimentales on ne peut espérer accroître nos connaissances sur la biologie des tréponématoses. Nous pouvons prédire, comme corollaire, en nous basant sur l'expérience, que des études fondamentales poursuivies dans ce domaine par des chercheurs vigilants et imaginatifs portent toujours en elles des germes de découvertes inattendues et peut-être considérables, qui feront progresser nos connaissances en biologie et en médecine, et contribueront à la victoire sur les tréponématoses.

Nous envisageons ici quatre grandes lignes de recherches susceptibles d'être poursuivies:

1. Etude des modes d'adaptation et de mutation des tréponèmes pathogènes. On doit accorder une attention particulière à l'influence possible des antibiotiques et de la radio-activité.

2. Recherches immunochimiques sur les tréponèmes pathogènes en s'attachant surtout à l'identification des composés antigéniques sérologiquement actifs dans le corps du tréponème et dans la substance capsulaire, en vue d'améliorer les méthodes, qui mettent en évidence l'existence de l'anticorps spécifique de groupe ou d'espèce.

3. Etude de la nature de l'anticorps de Wassermann et du mécanisme de sa production, afin d'expliquer son apparition dans l'infection tréponémique ou d'autres maladies chroniques.

4. Poursuite des recherches en vue de la culture *in vitro* des tréponèmes pathogènes.

---