

INSTITUT ALFRED FOURNIER

Laboratoire de Syphilis Expérimentale

**ACTUALITÉS PHYSIO-BIOLOGIQUES
SUR LA SYPHILIS**

P. Collart et M. Poitevin

SEMAINE DES HÔPITAUX

Expansion Scientifique Française

To Dr. A. Mac Donald
with our best remembrances.

8th Dec 1945

D. Sentering

ACTUALITÉS PHYSIO-BIOLOGIQUES

SUR LA SYPHILIS

P. Collart et M. Poitevin

SOMMAIRE

Avant-propos, M. BOLGERT	4
Introduction	5
I. — Le problème bactériologique	6-16
II. — Processus évolutif de l'infection syphilitique expérimentale et humaine	17-28
III. — Le problème de l'immunité	29-41
IV. — Le problème de la pénicillinothérapie	42-50
Conclusion générale	50-51

Avant-propos

Mon ami, le Docteur Pierre Collart, s'est consacré depuis 1934 à l'étude de la syphilis expérimentale sous l'égide de son Maître, le Professeur Gastinel, auquel il devait succéder en 1963 comme Directeur du Service de Syphilis Expérimentale de l'Institut Alfred Fournier. Son accession à ce poste devait lui permettre de poursuivre les mêmes travaux d'ordre bactériologique et immunologique avec l'aide de quelques collaborateurs. Collart put ainsi enrichir la biologie de l'infection tréponémique d'une moisson de faits nouveaux.

Je me limiterai ici à rappeler l'observation fondamentale qui fut à l'origine de ses découvertes.

Avant lui, de très rares auteurs, parmi lesquels je peux citer mon Maître le Professeur Sezary, avaient signalé la présence du tréponème dans le liquide céphalo-rachidien de quelques anciens syphilitiques, mais ces constatations n'avaient pas retenu l'attention et furent par la suite totalement oubliées.

Grâce à une technique nouvelle de coloration argentique du tréponème, utilisée par Collart depuis 1962, celui-ci put montrer la relative fréquence de ce spirochète dans le liquide céphalo-rachidien, le tissu lymphatique et l'humeur aqueuse, tant chez l'animal infecté expérimentalement que chez le patient syphilitique, quand l'un et l'autre sont traités tardivement, même par de fortes doses de pénicilline.

Une telle constatation expliquait très logiquement l'existence chez ces sujets d'anticorps immobilisants, dépourvus de toute action tréponémicide, contrairement à certaines assertions. Ces anticorps ne représentaient pas davantage une « cicatrice sérologique », terme dépourvu de toute signification biologique, pourtant trop souvent utilisé encore actuellement par de nombreux syphiligraphes.

Cette découverte de Collart devait être ultérieurement confirmée par de nombreux auteurs (en particulier Rimbaud, Yobs, Nicolau, Bonicelli, Ehrardt) et fut le point de départ de ses travaux ultérieurs.

Certes, au cours du demi-siècle écoulé, Collart avait publié les résultats de ses belles recherches, toujours poursuivies avec une infatigable patience et une scrupuleuse honnêteté, dans de nombreuses communications et d'importants articles parus dans diverses revues.

Mais je lui avais souvent exprimé mes vifs regrets qu'il n'ait jamais songé à les grouper dans un exposé d'ensemble. C'est maintenant chose faite, pour ma plus grande satisfaction, puisque la Semaine des Hôpitaux a bien voulu publier celui-ci, réparti en quatre numéros successifs, et a accepté de réunir ces quatre articles sous forme d'une monographie.

Ainsi syphiligraphes et biologistes pourront acquérir une connaissance complète de l'œuvre de Collart qui lui a valu, auprès des spécialistes, à juste titre, je tiens à le préciser, dût sa modestie en souffrir, un statut international.

M. BOLGERT
De l'Académie Nationale de Médecine

LA SYPHILIS ACTUALITÉS PHYSIO-BIOLOGIQUES

La syphilis, qui est loin d'être éradiquée, est une maladie infectieuse chronique à évolution extrêmement lente, révélée au début (3 semaines après le contage) par l'accident primaire (le chancre) qui cicatrise spontanément (ce n'est donc qu'un signe d'alarme) ; puis, quelques mois plus tard, par l'apparition de la roséole (second signe d'alarme) et qui s'efface en général sans traitement.

Mais, toute la gravité de cette infection vient des manifestations viscérales tardives, graves, survenant 15 à 20 ans après la contamination. Celles-ci sont caractérisées, le plus souvent, par des lésions nerveuses ou vasculaires qui, elles, sont irréversibles.

Pourquoi un exposé sur la syphilis expérimentale ? C'est que, depuis la découverte du tréponème pâle en 1905 par Schaudinn et Hoffmann, on n'a jamais réussi à cultiver ce spirochète et que, de ce fait, ce n'est que par l'expérimentation sur l'animal que nous avons pu acquérir quelques notions biologiques.

Sans doute les techniques sérologiques ont été remarquablement perfectionnées, surtout depuis 1949, mais sans méconnaître les très précieux renseignements fournis par ces réactions au point de vue diagnostique, nous ignorons leurs significations physio-pathologiques, aussi les interprétons-nous selon des opinions divergentes au point de vue de leurs valeurs pronostiques.

** Les systèmes et les doctrines en médecine sont des idées hypothétiques ou théoriques transformées en principes immuables. Cette manière de procéder appartient essentiellement à la scolastique et elle diffère radicalement de la méthode expérimentale. **

Claude BERNARD

Il en résulte que, tant en clinique qu'en syphilis expérimentale, nous sommes totalement dépourvus de critère absolu de guérison, c'est-à-dire permettant d'affirmer avec certitude une stérilisation bactériologique, principalement lorsque l'organisme est resté infecté pendant un long délai avant l'application de la thérapeutique.

Il nous a donc paru intéressant d'établir le bilan entre les faits précis et dûment confirmés d'une part, et les extrapolations hypothétiques nullement vérifiées d'autre part.

Nous allons donc envisager successivement :

- le problème bactériologique ;
- le processus évolutif de l'infection syphilitique expérimentale en comparaison avec les manifestations humaines ;
- le problème de l'immunité ;
- le problème de la pénicillinothérapie.

Laboratoire de Recherches en Syphilis Expérimentale, Institut Alfred Fournier, 25, bd St-Jacques, 75680 PARIS Cedex 14.

COLLART P., POITEVIN M. — La syphilis. Actualités physio-biologiques. I. — Le problème bactériologique. *Sem. Hôp. Paris*, 1981, 57, n° 17-18, 857-868.

I. — Le problème bactériologique

RÉSUMÉ

Faute de pouvoir cultiver le tréponème, la seule méthode permettant d'étudier la biologie de ce germe et la physiopathologie de cette infection réside dans les recherches en syphilis expérimentale. Après avoir montré les différents aspects du tréponème pâle, tant au microscope ordinaire qu'électronique, les auteurs passent en revue les divers types de reproduction proposés par les syphiligraphes et les récentes tentatives pour cultiver le germe, ainsi que le processus d'élimination. Puis ils étudient les propriétés biologiques et la structure antigénique du T.p. telle qu'elle a pu être établie par comparaison avec les spirochètes de culture. Enfin, ils montrent que le TIT et le FTA sont les deux réactions à caractère nettement spécifique. Elles ne traduisent que le contact de l'organisme avec l'antigène et leurs épreuves quantitatives ne peuvent être considérées comme exprimant le potentiel infectieux.

C'est en 1905 que Siegel signala, dans le sang et les lésions cutanées des sujets syphilitiques, la présence d'un soi-disant protozoaire qu'il nomma « cytorrhyses Luis ». Cette assertion fut soumise au contrôle du zoologiste Schaudinn et du syphiligraphie Hoffmann [117, 118] qui ne confirmèrent pas les dires de Siegel mais, au cours de leurs investigations, découvrirent le tréponème pâle, recherché vainement depuis si longtemps.

CLASSIFICATION

Le tréponème pâle, qui appartient à l'ordre des spirochètales, comporte deux familles : les Treponemaceae et les Leptospiraceae.

La famille des Treponemaceae se compose de trois genres : *Treponema*, *Borrelia* et *Cristospira*.

Parmi les espèces du genre *Treponema* pathogène pour l'homme, citons :

- *Treponema pallidum* (T.p.), agent de la syphilis ;
- *Treponema pertenue*, agent du Pian ;
- *Treponema carateum*, agent de la Pinta ou du Caratée.

Mais ce genre comporte également une espèce responsable d'une tréponématose du lapin : *Treponema paralues cuniculi*, qui ne serait pas pathogène pour l'homme.

SUMMARY

Syphilis. An up-to-date physio-biological view of the main topics. I. — The bacteriological question

For lack of being able to grow *Treponema pallidum*, the only method which allows us to study the biology of this germ and the physiopathology of this infection lies in researches in experimental syphilis. After pointing out the different aspects of *Treponema pallidum*, either with light microscopy or electron microscopy, the authors review the different kinds of reproduction suggested by syphiligraphs, the recent trials to cultivate the tréponème, and the processes of elimination. Then, they examine the biological properties and the antigenic structure of T.p. as it has been established by comparison with cultivable spirochetes. To end with, the authors show that both the TPI test and the FTA test are two very specific reactions ; these tests mean nothing but the fact that the patient has been in contact with the antigens of *Treponema pallidum* and the quantitative tests cannot be considered as expressing the infectious potential capacity.

HABITAT

Sans doute l'homme est le réservoir essentiel de *Treponema pallidum*, toutefois les Docteurs Fribourg-Blanc, Niel et Mollaret [54, 55, 56], Brown et coll. [17] ainsi que Baylet et Thivolet [11] ont mis en évidence chez des singes africains des spirochètes ayant des communautés antigéniques avec *Treponema pallidum*.

MORPHOLOGIE ET STRUCTURE

Examen au fond noir

Pour mettre en évidence le tréponème pâle, nous avons à notre disposition plusieurs techniques ; mais la méthode la plus simple, la plus commode, la plus rapide et qui de plus nous donne la possibilité d'étudier la mobilité du germe, est l'examen au fond noir. Le spirochète apparaît alors sous la forme d'une spirale ondulée et mobile, et c'est du fait de sa faible réfringence qu'il a été qualifié de pâle.

On lui reconnaît trois sortes de mouvements, généralement combinés :

- un mouvement en pas de vis ;
- un mouvement de latéralité ou pendulaire lorsque l'une de ses extrémités est fixe ;

Fig. 1.
nema
tenue
le lapin

Fig. 2
ques
Jacqu
4 form
spire
3 et 5

d'ur
de l
de s
fon
hélu
ger
T
lidu
rosi
par

Mét
S
rapi
pou
che
c'es
on
cou

A
pro
tori
rati
ble
par
con

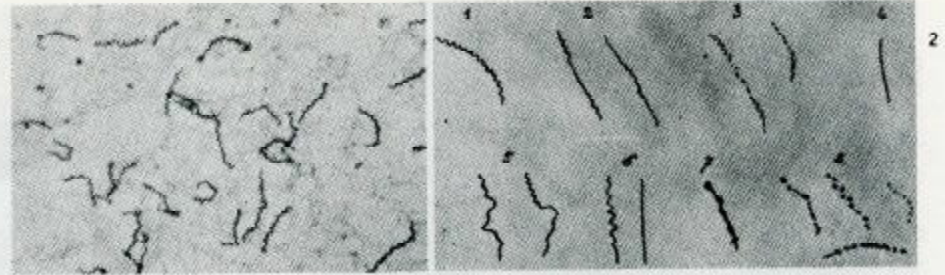
A
dés
[22
qui
me
reu
lon
de

qu
des
sus
pe
rat

l
qu
de
gn
à s
fig
rai

Fig. 1. — Formes typiques de *Treponema pallidum* : frottis de la aéroëité obtenue à partir d'une orchite aiguë chez le lapin.

Fig. 2. — Formes atypiques et typiques de *Treponema pallidum* d'après Jacquet et Sézary [66]. 1 forme typique ; 4 formes régulières mais à tours de spire plus serrés et moins profonds ; 2, 3 et 5 à 8 formes atypiques.



— un mouvement ondulatoire qui se propage d'une extrémité à l'autre. Il mesure environ 6 à 15 μ de long sur 0,3 à 0,5 μ large et présente 6 à 15 tours de spires, chaque spire étant en général étroite, profonde, régulière et permanente ; en effet la forme hélicoïdale ne s'efface jamais pendant la mobilité du germe.

Tel est l'aspect typique que revêt *Treponema pallidum* lorsqu'il est examiné au fond noir dans une sérosité prélevée, soit sur un accident primaire, soit par ponction d'une lésion secondaire.

Méthode de coloration

Si l'examen au fond noir est un moyen pratique, rapide, par contre il est impossible d'y avoir recours pour une étude prolongée qui nécessite des recherches sur des prélèvements peu riches en germes, c'est-à-dire sur des lésions anciennes. Dans ces cas on est obligé d'appliquer des colorations sur des coupes ou des exsudats fixés.

A cet effet, de très nombreuses techniques ont été proposées [123] (May-Grunwald-Giemsa, bleu Victoria ou encore mercurochrome, etc.), mais la coloration la plus fréquemment utilisée est incontestablement l'imprégnation argentique, dont la plus répandue est celle de Fontana-Tribondeau qui, par contre, est loin de donner les meilleurs résultats.

Aussi, ces dernières années, de nouveaux procédés, dérivés de la méthode de Dieterlé (Dunoyer [22], Krajian [79, 136], etc.) ont été mis au point, qui permettent d'obtenir des préparations très nettement supérieures ; mais ces procédés ont malheureusement l'inconvénient d'être délicats, d'exécution longue et, de ce fait, mal adaptés pour des analyses de routine. Par contre, c'est à l'aide de ces techniques qu'il a été possible de fouiller minutieusement des frottis ou des prélèvements de lésions anciennes suspectes ; ce qui a permis de découvrir des T.p. persistants dans ces tissus. Certes, ces diverses colorations ne revêtent aucun caractère de spécificité.

Des aspects atypiques ont été bien décrits par Jacquet et Sézary [66, 123], qui ont pu ainsi distinguer des formes longues ou plus courtes, étirées, rectilignes, fragmentées, rétractées, épaissies, annulaires, à spires relâchées ou encore granulaires, toutes ces figures se rencontreraient lorsque le T.p. se trouverait dans des conditions de vitalité défavorables

[122]. Mais, la présence sur la même lame de spirochètes aux formes atypiques voisinant avec des T.p. de morphologie classique ont permis d'identifier et d'authentifier ces divers éléments [23, 65, 66, 67] (fig. 1 et 2).

Examen à l'immunofluorescence [29, 35, 36, 79]

Cette méthode permet de mieux préciser le caractère spécifique ou non des spirochètes mis en évidence. Mais elle ne peut être appliquée que dans un laboratoire spécialement équipé et, d'autre part, offre l'inconvénient de ne pouvoir faciliter des recherches prolongées du fait de la rapidité d'extinction de la fluorescence. Dans de telles conditions un résultat positif présente certes une valeur incontestable, mais en cas contraire, la réponse ne peut être considérée comme négative. Peut-être la réaction immuno-enzymatique à la peroxydase permettrait d'obvier à cet inconvénient [124, 128].

Examen au microscope électronique

La structure de *Treponema pallidum* a été étudiée depuis une vingtaine d'années au microscope électronique sur des coupes ultrafines par de très nombreux auteurs [5, 6, 16, 63, 68, 81, 93 à 103, 106, 107, 129, 130, 137]. Sur de telles préparations le T.p. apparaît constitué de dehors en dedans par :

— une couche extra-cellulaire [20] observable après exposition au rouge ruthenium [139] qui n'existerait que chez les spirochètes pathogènes ;

— une membrane d'enveloppe souple, fragile et élastique, composée de trois feuilletts qui seraient de nature glucido-lipido-polypeptidique ; cette enveloppe serait vitale, sa rupture entraînant la mort du germe ; c'est elle qui serait le support des antigènes de surface, les plus spécifiques de *Treponema pallidum* ;

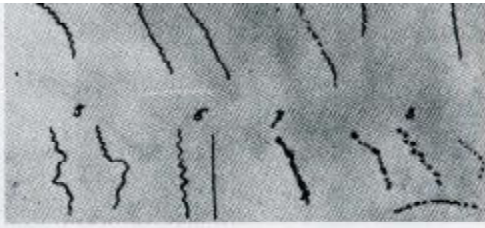
— un appareil locomoteur, formé en moyenne de cinq fibrilles ou plus, qui s'entourent autour du corps du spirochète ; chacune de ces fibrilles s'insérerait sur un granule basal situé le plus souvent à l'une de ses extrémités. Ces fibrilles seraient contractiles et joueraient un rôle important dans la mobilité si caractéristique du micro-organisme ;

— une couche de glycosaminopeptide ;

. — Formes typiques de *Treponema pallidum* : frottis de la sérosité obtenue à partir d'une orchite aiguë chez un homme.



! — Formes atypiques et typiques de *Treponema pallidum* d'après et de Sezary [66]. 1 forme typique ; nes régulières mais à tours de plus serrés et moins profonds ; 2, à 8 formes atypiques.







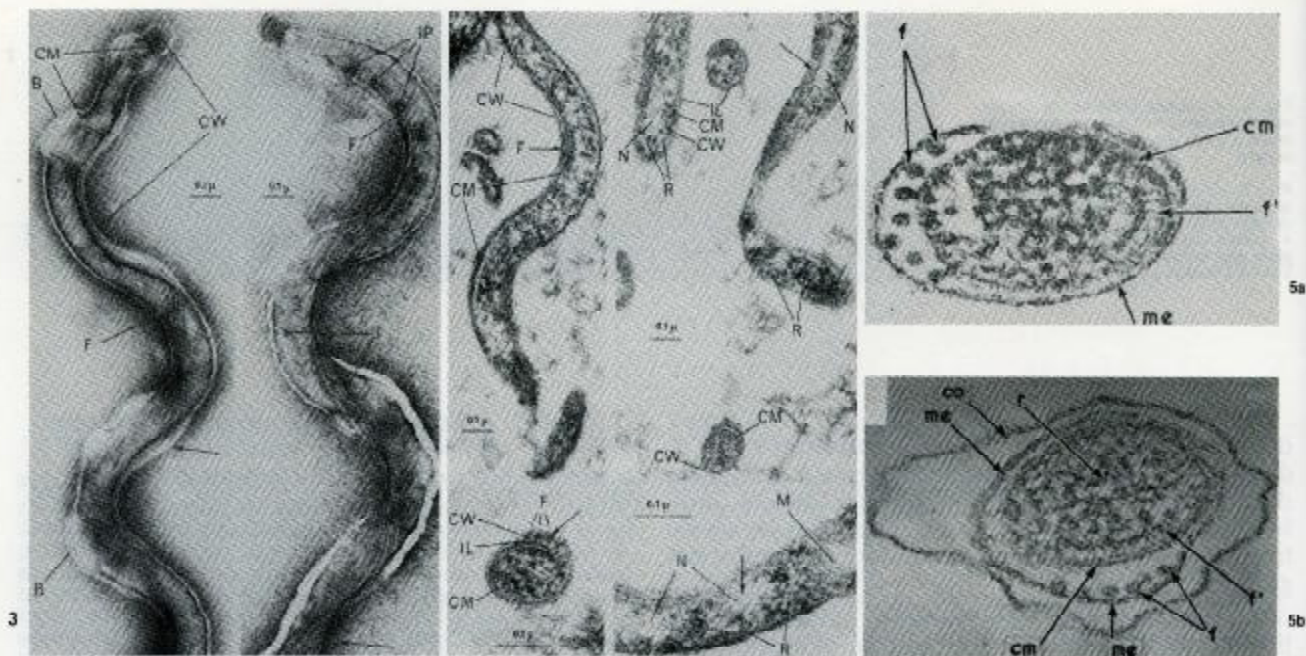


Fig. 3. — *Treponema pallidum* (souche Nichols) vu au microscope électronique. G. original $\times 90\,000$ (cliché O.B. Jepsen & coll. [68]). B : évagination ; CM : membrane cytoplasmique ; CW : paroi cellulaire ; F : faisceau fibrillaire ; I : inclusion ; IP : point d'insertion.

Fig. 4. — Coupes de *Treponema pallidum* (souche Nichols) vues au microscope électronique. G. original $\times 90\,000$ (Cliché O.B. Jepsen & coll. [68]). CM : membrane cytoplasmique ; CW : paroi cellulaire ; F : faisceau de fibrilles ; IL : feuillet intermédiaire ; M : mésosome ; N : région nucléaire ; R : ribosome.

Fig. 5. — Coupes ultrafines de *T. pallidum* (d'après N.M. Ovcinnikov [100]). G. original $\times 180\,000$. f : fibrilles ; f' : 2^e couche de fibrilles ; me : paroi ; cm : membrane cytoplasmique ; r : ribosome. co : couche extracellulaire.

- une membrane limitant le corps cellulaire qui se replie par endroits pour former des mésosomes ;
- un cytoplasme contenant des ribosomes, des vacuoles, etc. ;
- enfin, une formation nucléaire sans membrane.

La complexité de cette structure permettrait de la rapprocher de celle des bactéries à Gram négatif (fig. 3, 4, 5).

CULTURE

Malgré d'innombrables essais, tant sur milieu synthétique que sur embryon de poulet, ou encore sur cultures cellulaires [47, 48, 49, 50, 53, 69, 114], toutes les tentatives pour cultiver *in vitro* le tréponème pathogène n'ont abouti qu'à des échecs [15] ; et l'on sait que le milieu utilisé pour effectuer le test d'immobilisation des tréponèmes, mis au point par Mayer [83], est un milieu de conservation, de survie, permettant au spirochète de demeurer mobile, vivant et pathogène, pendant 48 heures environ dans certaines conditions, mais non de se reproduire ; ce n'est donc pas un procédé de culture [19, 52, 62, 91, 116].

Des essais furent également réalisés, chez l'animal, en injectant des tréponèmes pâles pathogènes

dans des chambres implantées chirurgicalement (Levaditi et McKintosh, 1908 [73]).

Ces travaux furent repris en 1973 par T. Rathlev chez le cobaye [110], en 1976 par Tight et Perkins [132] chez le lapin, enfin en 1979 par Morrison et Egglestone chez le hamster doré [82].

Chez le cobaye, une augmentation, de 10 fois environ, du nombre initial de tréponèmes a pu être observée pendant six semaines, puis ce nombre décroît très rapidement avec une chute concomitante des immobilisines. L'inoculation au lapin permet de montrer que les T.p. avaient gardé leur virulence au cours des huit semaines de l'expérience.

Chez le hamster, Morrison et Egglestone observèrent également une augmentation du nombre de tréponèmes présents dans la chambre implantée et purent effectuer avec succès des passages dans les chambres se trouvant chez des hamsters receveurs neufs. Les réponses sérologiques furent faibles et contradictoires.

Chez le lapin, l'inconvénient de cette technique est due à la formation de lésions syphilitiques cutanées consécutives aux ponctions de la chambre.

De multiples études sont en cours aux Etats-Unis pour tenter de découvrir ce qui, dans les voies du

métabolisme du *Treponema pallidum* pathogène (souche Nichols), serait susceptible d'en permettre la culture *in vitro* [7, 8, 10, 76, 77, 115, 119].

Cependant, il faut signaler que de nombreux expérimentateurs (Noguchi [86, 87, 88, 89, 90], Reiter [2, 111], Kazan [21], Ovcinnikov [104]) ont réussi, en partant soit d'une lésion syphilitique humaine, soit de manifestations expérimentales sur l'animal, à isoler et même à cultiver quelques spirochètes *in vitro*. Toutes ces souches ont présenté les caractères suivants [27] :

— une morphologie plus ou moins voisine de celle du tréponème pathogène ;

— une composition antigénique se rapprochant plus ou moins de celle de *Treponema pallidum* puisque certains sérologistes ont pu réaliser une réaction de fixation du complément en utilisant une de ces souches (Reiter) comme antigène ;

— mais avec ces spirochètes de culture il n'a jamais été possible de reproduire la maladie chez le lapin : ils n'ont donc aucun pouvoir pathogène.

Des études génétiques d'hybridation d'ADN-ADN ont permis d'établir une différence totale entre les tréponèmes pathogènes et les tréponèmes non pathogènes cultivables. Miao et Fieldsteel [78b] ont pu montrer que, dans les limites de résolution de la technique utilisée, *Treponema pertense* (Gauthier) et *Treponema pallidum* (Nichols et KKj) pouvaient être considérés comme appartenant à une seule espèce.

T. pallidum (Nichols) et *T. pertense* (Gauthier) ne présentent pas de séquence d'homologie détectable avec *T. phagedenis* (biotype Reiter) et *T. refringens* (biotype Noguchi), qui sont des tréponèmes non pathogènes cultivables bien qu'isolés de lésions chez des syphilitiques.

Des études récentes [78a] avaient permis d'observer ce manque d'homologie entre *T. pallidum* (Nichols) et 5 souches différentes de tréponèmes cultivables, d'origine humaine. D'autre part, ils ont pu noter que, parmi les souches de tréponèmes cultivables étudiées, *T. phagedenis* et ses biotypes étaient distincts des biotypes de *T. refringens*.

Enfin, il est intéressant de noter que *T. pallidum* (Nichols) qui a été passé depuis plus de 65 années de lapins à lapins, ne présente pas de modifications détectables de ses séquences d'ADN comparativement à celles de *T. pallidum* (KKj) adapté au lapin depuis peu (8 passages) [78b].

De ces études physicochimiques du génome, on ne peut, cependant, pas conclure qu'il n'existe pas de relation entre *T. pallidum* et n'importe lequel des tréponèmes cultivables isolés. Du fait des limites de résolution de cette technique, on ne peut apprécier qu'une partie du matériel génétique (5 % du génome entier, ce qui suffirait à coder pour 450 protéines).

Ainsi les séquences codant pour les antigènes de groupe ne sont-elles pas détectées par cette méthode [78a et b].

MODE DE REPRODUCTION

Faute de pouvoir cultiver le Tréponème pâle, on conçoit la difficulté d'une telle recherche, d'autant plus que l'étude de la syphilis expérimentale a montré l'existence de tissus paraissant dépourvus de spirochètes et néanmoins se révélant virulents par passage à un animal receveur neuf.

Aussi, dans l'état actuel de nos connaissances, on peut constater que : à la phase de croissance exponentielle, lorsque le germe se trouve dans un milieu favorable à sa multiplication, tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître, ainsi que l'avait montré Hoffmann [65] que le mode de reproduction s'effectuerait par scissiparité, soit qu'il s'agisse de division isotypique, lorsque celle-ci se produit à la partie médiane du parasite, soit de division anisotypique si celle-ci se trouve à inégale distance des deux extrémités (fig. 6). Cette multiplication, pour Cumberland et Turner [31, 135] ainsi que pour Eagle, Magnuson, Fleischman et coll. [46], s'effectuerait selon un processus continu de croissance exponentielle.

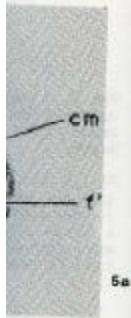
Cette estimation a été calculée d'après le délai écoulé entre l'inoculation d'un matériel virulent calibré à un lapin et l'apparition de la lésion qui se manifesterait lorsqu'il y aurait *in situ* 10 millions de germes. Dans de telles conditions (favorables) les tréponèmes se diviseraient environ une fois toutes les 30-33 heures et leur nombre décuplerait approximativement tous les quatre jours [31]. Pour le P^r Pillot, les tréponèmes ne se multiplieraient que par scissiparité [106, 107].

Mais bien des objections viennent s'opposer à l'unicité de cette conception.

1) Dans une étude sur le « Problème de l'incubation locale de *Spirocheta pallida* » [59, 60] le P^r Gastinel montrait que « dès la deuxième heure après l'inoculation intratesticulaire d'une émulsion riche en T.p., il se produit une chute brusque du matériel injecté. Les parasites disparaissent presque complètement le troisième jour. Mais on observe de nombreuses granulations, mobiles ou non, isolées ou suivies de filaments à deux ou trois tours de spires ». Parfois se trouvent des spirochètes d'une particulière ténuité, rappelant les formes métacycliques décrites par Leishman et Brumpt [18, 58, 72] pour le récurrent. Ces formes se remarquent aussi lorsque, vers le sixième ou huitième jour, réapparaissent des « spirochètes de morphologie normale ».

2) D'autre part, nous avons montré qu'avec une quantité égale de T.p. mais de souches différentes ou bien d'adaptations diverses, on observait des délais extrêmement variables dans la durée de cette période d'incubation, pouvant aller de 6 à 38 jours [26, 27].

3) Dans l'étude du comportement des spirochètes inoculés, il convient d'envisager la qualité des tissus récepteurs. Ce qui avait amené le P^r Levaditi et coll. à distinguer les tissus tréponémophiles par opposition aux tissus tréponémophobes. C'est ainsi que le cer-



ent (Le-

Rathlev
Perkins
rison et

fois en-
être ob-
décrut
nte des
mit de
ence au

bservè-
de tré-
et pu-
ans les
reuteurs
bles et

hnique
s cuta-
.

s-Unis
ies du

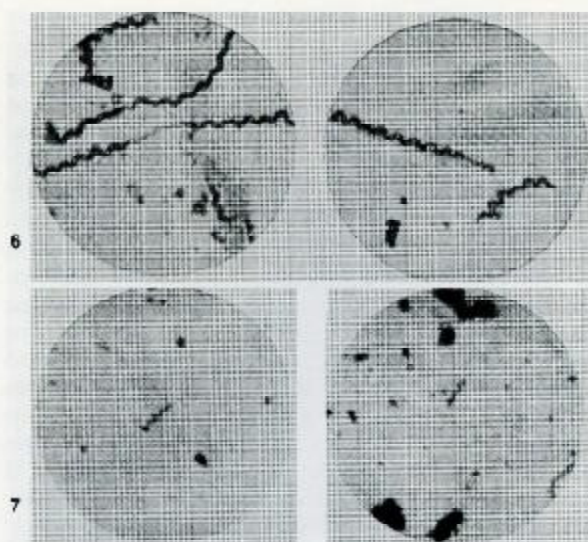


Fig. 6. — Modes de Division de *Treponema pallidum* [125]. a) Division homotypique ; b) Division hétérotypique (d'après C. Simon et R. Mollinedo).

Fig. 7. — *T. pallidum* : ponction ganglionnaire, granule spirochétogène (d'après C. Simon et R. Mollinedo [127]).



Fig. 8. — Orchite à 4 et 7 jours : granule spirochétogène (d'après E.D. De Lamater et coll. [39]). G. original $\times 4000$.

veau de la souris inoculé se révèle infecté et infectant pour l'animal receveur neuf dans 50 % des cas, bien qu'il soit pratiquement impossible d'y déceler des T.p. [27].

4) D'ailleurs rien ne permet d'affirmer qu'une telle rapidité de division se rencontre également chez tous les sujets, les conditions physiologiques ne sont pas nécessairement identiques. C'est ainsi que pour Rosahn, chez la souris, les T.p. ne se multiplieraient que tous les 24 jours [59, 112]. Et chez l'être humain ? Nous l'ignorons totalement, d'autant plus qu'il n'est pas possible de connaître même approximativement la richesse en germes de la sérosité contaminante qui, vraisemblablement, n'a rien d'analogue à celle de l'inoculum chez l'animal. Aussi de nombreuses hypothèses ont été proposées pour chercher à interpréter de tels phénomènes.

a) Déjà Schaudinn avait soutenu que durant la phase de latence de la maladie, le micro-organisme pouvait se présenter sous une forme granulaire [117, 118].

b) En 1927, le P^r Levaditi et coll. [74, 75] s'étaient faits les promoteurs d'une théorie du cycle évolutif du T.p. qui comporterait :

— une phase tréponémique (stade végétatif) ;

— une phase présirochétienne (stade infravisible) durant laquelle le germe serait représenté par des granulations infravisibles susceptibles de redonner naissance ultérieurement à des formes hélicoïdales [92].

c) En 1941, Séguin [120, 121] et Mollinedo [59, 80, 125, 126, 127] apportèrent une nouvelle conception en faisant jouer un rôle important au granule spirochétogène. Celui-ci se présente comme un grain argyrophile, rond ou ovalaire, du diamètre du parasite dont il est issu et muni d'un fin filament hélicoïdal (fig. 7 et 8). C'est par ce fin filament qu'on le distinguerait des artefacts de préparation. Ces granules pourraient persister dans l'organisme après des doses élevées de produits antisypilitiques alors que les formes spiralées disparaîtraient plus ou moins rapidement. Il s'agirait donc là d'un état de résistance et non de dégénérescence.

d) En 1950, De Lamater, Haanes et Wiggall [37, 38, 39, 40, 41, 64] ont décrit à côté de ces granules denses :

— des formations en anneaux (« ring forms ») qui seraient des « formations kystiques » pouvant contenir un seul ou plusieurs granules munis parfois de petits filaments ;

— des formes arrondies (« round forms ») ou « loop forms » dues à des enroulements en peloton des extrémités du germe.

e) Enfin d'autres auteurs (Dymowska et Babudieri [45]) ont dépeint des microcolonies qui représenteraient un mode de multiplication des tréponèmes à point de départ granulaire.

Tous ces divers aspects ont été vus, décelés et photographiés à de nombreuses reprises, tant sur des frottis de lésions humaines [3, 30, 122, 126] qu'expérimentales [9, 61, 66, 102] chez le lapin aussi bien à l'examen au fond noir qu'au microscope à contraste de phase par coloration, ou plus récemment au microscope électronique (fig. 9).

Ce n'est donc pas sur leur réalité que portent les discussions, mais sur leur interprétation : organite de dégénérescence pour les uns, de résistance pour les autres. Pour le P^r Ovcinnikov [99, 102] l'apparition de ces granules, en réponse à divers facteurs, témoignerait seulement des lois générales de la formation des kystes en présence de conditions d'existence défavorables. Ils constitueraient donc des formes de défense destinées à assurer une survie prolongée.

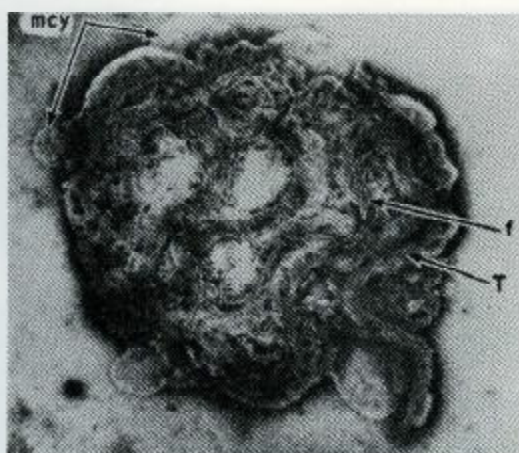


Fig. 9. — *T. pallidum* souche Nichols d'une orchite de 7 jours inclus dans un kyste. Méthode de contraste négatif (d'après N.M. Ovoinnikov [100]). G. original $\times 20\ 000$. mcy : enveloppe du kyste ; f : fibrilles ; T : tréponème.

MODE D'ÉLIMINATION DES TRÉPONÈMES

Nous sommes fort peu renseignés sur ce sujet.

L'absence de mouvements du T.p. au fond noir ne permet pas d'affirmer la perte de sa vitalité et ne signifie donc pas nécessairement la disparition de son pouvoir pathogène dans l'immédiat [60].

Dans certains cas, après imprégnation argentique, on peut observer une sorte de désintégration progressive, une lyse des spirochètes (tréponémolyse de Nicolas et Favre) qui perdent leur teinte sombre pour devenir comme transparents avec quelques granulations internes [21].

Existe-t-il une phagocytose ? Longtemps on a nié un tel processus du fait qu'au cours de la maladie on n'a jamais observé de suppuration. Mais, durant ces dernières années, au cours des recherches effectuées au microscope électronique, tant en URSS par le P^r Ovcinnikov [93, 102] qu'aux États-Unis par le D^r Lauderdale et coll. [71] et le D^r Azar et coll. [3, 4], tous ces auteurs ont bien mis en évidence la présence de formes tréponémiques intracellulaires, non seulement dans des macrophages (fig. 10) où ils seraient plus ou moins altérés, mais dans des histiocytes, des plasmocytes (fig. 11) dans des cellules lymphatiques, et même dans des cellules endothéliales. En réalité, il semble que les T.p. peuvent pénétrer dans tous les éléments cellulaires, y compris dans le noyau [131] (fig. 12) et nous reproduisons à ce sujet la photo d'un T.p. perforant la tête d'un spermatozoïde (fig. 13) [24].

Comment interpréter ces diverses constatations ?

a) Pour Tereza Wrzolkowa et coll. [138] dans les vacuoles cellulaires seraient seuls visibles des fragments de tréponèmes, dépouillés de leur enveloppe externe, ce qui ferait penser à ces auteurs que les T.p. pénétreraient dans les éléments cellulaires par endocytose et non par phagocytose [4].

b) Selon Fitzgerald et coll. [50, 51] le spirochète serait englobé dans une substance mucopolysaccharidique qui serait susceptible d'inhiber le pouvoir de défense cellulaire.

c) Pour J.F. Alderete et J.B. Baseman [1] la paroi externe du T.p., en pénétrant dans l'organisme, se recouvrirait d'une couche de protéine de l'hôte, ce qui empêcherait les phagocytes de reconnaître le spirochète comme un corps étranger.

Toutes ces diverses interprétations reposent en réalité sur des hypothèses qui n'ont pu encore être confirmées, ce qui montre une fois encore combien nous sommes dépourvus de notions précises sur la biologie des T.p.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

Faute de pouvoir cultiver le tréponème pâle, il est très difficile de préciser les diverses propriétés biologiques.

Ils peuvent conserver leur vitalité plusieurs années par congélation dans le gaz carbonique à -70°C ou mieux dans l'azote liquide à -180°C .

Par contre, ils sont rapidement tués à l'air pur, par dessiccation, et à 42° sont détruits en trente minutes. Cette sensibilité à la température permettrait d'expliquer l'action de la pyrèthérapie appliquée en clinique autrefois dans les cas de syphilis cérébrale.

Dans une solution de norvasénobenzol à 1/125^e, ils conservent leur mobilité pendant 12 h, mais l'adjonction d'un fragment de tissu hépatique entraîne leur destruction sans doute par un processus d'oxydation.

Dans le milieu de Mayer-Nelson, qui est un milieu de survie et non de culture, ils conservent leur mobilité pendant environ 48 h. Mais, du fait qu'ils ne peuvent se multiplier, l'adjonction d'une solution de pénicilline déterminerait leur immobilisation, et non la mort du germe [28].

STRUCTURE ANTIGÉNIQUE

L'absence de culture *in vitro* a entravé jusqu'à présent l'analyse antigénique des T.p. Ce n'est donc que par comparaison avec les spirochètes non pathogènes (Reiter) cultivés *in vitro* que l'on a pu présumer l'existence d'un certain nombre d'antigènes [2, 43, 44].

1) D'un antigène polysidique, qui serait un antigène doté d'une très haute spécificité ; malheureusement il n'a pu encore être isolé à l'état chimiquement pur.

2) Un antigène lipidique — la cardiolipine — qui est un haptène : lorsque celle-ci est couplée expérimentalement à des protéines, puis inoculée au lapin, ce dernier élabore un anticorps se comportant

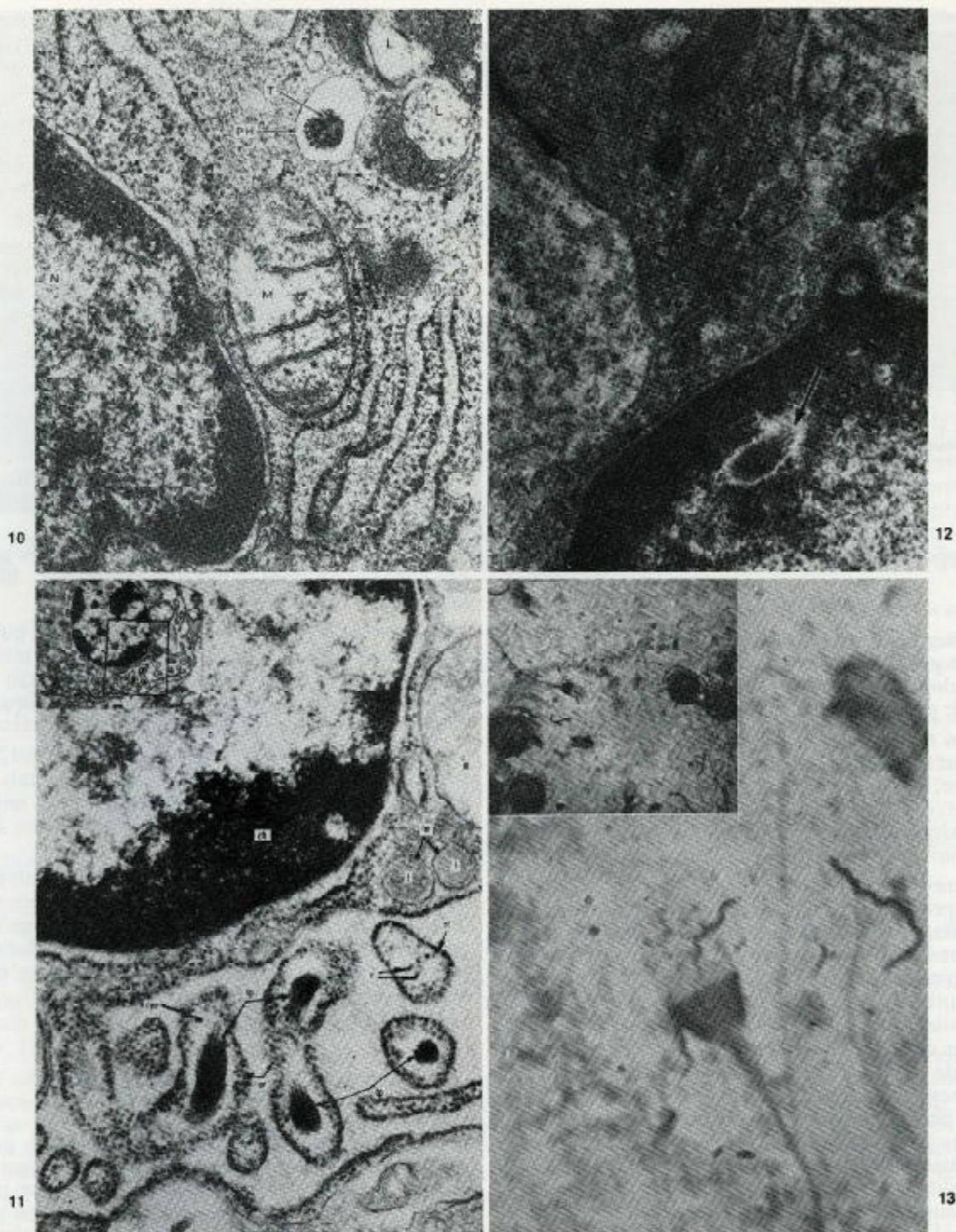


Fig. 10. — Tréponème intra-macrophagique : coupe ultrafine d'un syphiliome de lapin 47 jours après inoculation (d'après N.M. Ovcinnikov [101]). G. original $\times 60\,000$. L : lysosome ; M : mitochondrie ; N : noyau ; Ph : phagosome ; T : *Treponema pallidum*.

Fig. 11. — Tréponème intra-plasmocytaire : coupe ultrafine d'un chancre de 6 semaines (d'après N.M. Ovcinnikov [99]). G. original $\times 10\,000$ (détail : $100\,000\times$). cye : espace du reticulum endoplasmique ; r : ribosome ; rf : ribosome fixé ; l : lysosome ; lm : membrane lysosomiale ; n : noyau ; ch : chromatine.

Fig. 12. — Tréponème intra-nucléaire : coupe oblique d'un tréponème trouvé dans le noyau d'une cellule épithéliale, provenant d'une lésion syphilitique humaine chez une femme (d'après J.A. Sykes et J.N. Miller [131]). G. original $\times 32\,000$.

Fig. 13. — Tête d'un spermatozoïde perforée par un tréponème (orchite aiguë chez le lapin). G. original $\times 1\,000$ et $3\,000$.

comme la réagine présente dans les sérums syphilitiques [34, 113] : on admet que l'infection tréponémique provoque, au niveau des lésions, un remaniement biochimique aboutissant à la formation de complexes étrangers à l'organisme, donc antigéniques, à la constitution desquels participent sans doute les protéines du tréponème [42, 70]. Ces complexes sont mis en évidence par les réactions de floculation et de fixation du complément.

3) Des antigènes protéiques, qui sont des antigènes communs à tout le groupe des tréponèmes pathogènes et saprophytes. Cet antigène est couramment extrait du spirochète de Reiter, utilisé uniquement en réaction de fixation du complément [34].

4) A côté de ces trois groupes d'antigènes, il faut signaler l'antigène immobilisant mis en évidence en 1939 par le P^r Turner [134] par son test de séro-protection. C'est en s'appuyant sur cette découverte qu'en 1949 Nelson et Mayer [83, 84] réussirent à mettre au point le test d'immobilisation des tréponèmes (TIT). Cet anticorps immobilisant, différent de celui de Wassermann, présente un caractère élevé de spécificité.

5) Quant à la nature des antigènes tréponémiques impliqués dans la mise en évidence d'anticorps par immunofluorescence (FTA) (*) [29-35] elle n'est pas encore connue. Il est probable que plusieurs antigènes interviennent dans cette réaction [34].

Malgré les difficultés de séparation de *Treponema pallidum* des contaminants tissulaires de l'hôte, de nombreuses autres préparations antigéniques ont été étudiées :

a) *des lysines* : découvertes en 1953 par L.J. Borel [14] mais ce phénomène ne s'est pas révélé apte à établir une réaction pratique pour la routine ;

b) *des agglutinines* : révélées par le D^r Touraine en 1912 [133] ; cette étude fut reprise en 1954 par le P^r Turner [135] et permet de décrire une technique de réaction qui serait très spécifique, mais la difficulté serait d'obtenir un antigène suffisant ;

(*) FTA : Fluorescent Treponemal Antibody.

c) enfin *l'immuno-adhérence* : décrite en 1952 par Nelson [85] et étudiée en France par le P^r Daguet et L.J. Borel [32, 33]. Il s'agirait là d'une réaction spécifique due à la fixation d'un anticorps syphilitique sur le tréponème pâle, mais qui requiert pour cela la présence d'un complément thermolabile permettant l'adhérence des tréponèmes aux hématies. Ce phénomène spécifique peut être observé sous forme d'une hémagglutination.

Peu de maladies infectieuses ont suscité autant de recherches dans le domaine des réactions sérologiques que la syphilis depuis l'emploi du foie d'Herredo par Wassermann jusqu'à la mise au point de la cardiolipine par Pangborn et, plus récemment, du test d'hémagglutination de *Treponema pallidum* (TPHA) décrit par T. Rathlev [108, 109], qui est un test d'hémagglutination d'hématies de moutons sensibilisées par un antigène tréponémique. Cette réaction, pour certains auteurs, ne serait pas exempte d'un certain nombre de défauts [57].

Toujours faute de pouvoir cultiver *Treponema pallidum*, aucun de ces antigènes ne présente de caractère nettement spécifique, à l'exception de celui du test d'immobilisation et du FTA.

On pourrait être tenté de croire que le pourcentage de ces deux derniers tests serait susceptible de traduire l'intensité du processus infectieux. Or, ayant inoculé 50 lapins neufs le même jour avec un matériel identique (souche Nichols) de richesse analogue, on aurait pu penser qu'après six mois d'évolution, chacun de ces lapins présenterait un titre égal d'immobilisine [24, 25]. L'expérience a montré qu'il n'en est rien puisqu'après un tel délai les titres varient entre 300 et 5 000 U. Ceci montre bien que ces taux n'ont aucun rapport avec l'intensité du processus infectieux et n'expriment qu'une réaction individuelle dont nous ignorons le mécanisme.

Les résultats sérologiques indiquent seulement le contact (ou non) de l'antigène avec l'organisme sans pour cela pouvoir apporter la moindre précision sur la valeur de ces taux en ce qui concerne le potentiel infectieux. Le seul renseignement que peuvent fournir ces titres quantitatifs, est celui de permettre au clinicien de suivre l'évolution post-thérapeutique de la maladie.

CONCLUSION

Cette revue de nos connaissances bactériologiques sur *Treponema pallidum* montre à quel point ces notions restent encore rudimentaires, fragmentaires et incomplètes, faute de pouvoir cultiver ce germe. Bien des données que nous avons rapportées n'ont pu être établies que par comparaison avec des spirochètes de culture, donc non pathogènes. Aussi,

selon l'adage bien connu « qu'il ne faut donner pour certain que ce qui est certain », sommes-nous obligés de considérer bien de ces éléments comme faisant partie encore du domaine des probabilités, voire même des hypothèses non vérifiées expérimentalement.

RÉFÉRENCES

1. ALDERETE J.F., BASEMAN J.B. — Surface associated host protein on virulent *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.*, 1979, 26, 1048-1056.
2. ALWILDA L., WALLACE, A., HARRIS. — Reiter Treponeme. *Bull. Org. Mond. Santé*, 1967, (suppl.), 36, 2.
3. AZAR H.A., TUAN DUC PHAM, KURBAN A.K. — An electron microscopic study of a syphilitic chancre. *Arch. Path.*, 1970, 90, 143-150.
4. AZAR H.A., TUAN DUC PHAM, KURBAN A.K. — Phagocytic engulfment of *Treponema pallidum* by plasma cells. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1971, 71, 255.
5. BABUDIERI B. — Ricerche di microscopia elettronica. IV. Studio morfologico del genere. *Treponema. R.C. Ist. sup. Sanita*, 1952, 15, 711-722.
6. BABUDIERI B. — Die Feinstruktur der Leptospiren und anderer Spirochäten. *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.*, 1958, 173, 386-406.
7. BARBIERI J.T., COX C.D. — Glucose incorporation by *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.*, 1979, 24, 291-293.
8. BARBIERI J.T., COX C.D. — Pyruvate oxidation by *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.*, 1979, 25, 157-163.
9. BARSAMIAN A.G. — Recherches de I.p. par l'immunofluorescence en phase d'éclipse. *Thèse*, Paris, 1973.
10. BASEMAN J.B., NICHOLS J.C., MOGERLEY S. — Capacity of virulent *Treponema pallidum* (Nichols) for deoxyribonucleic acid synthesis. *Infect. Immun.*, 1979, 23, 392-397.
11. BAYLET R., THIVOLET J., SEPELHAN M., NOUHOUAY Y., BAYLET M. — La tréponématose naturelle ouverte du singe papio papio en Casamance. *Méd. Afr. noire*, 1971, 18, 11, 799-801 et *Bull. Inst. Pasteur*, 1972, 33, 12, 2672.
12. BOLGERT M. — Syphilis : interprétation et surveillance des réactions sérologiques. *Concours Méd.*, 1974, 26, 4143-4152.
13. BOLGERT M., LEVY G., DAGUET G. — A propos du dosage quantitatif des réagins dans la syphilis acquise. *Bull. Soc. Franç. Derm. Syph.*, 1958, 65, 26-30.
14. BOREL L.J. — VI. Congrès International Microbiologie. Section Immunochimie et Virologie, 1953, 207.
15. BOYAU. — Les tentatives de culture du Tréponème pâle. *Thèse*, Paris, 1950.
16. BRADFIELD J.R.G., CARTER D.B. — Electron microscopy evidence on the structure of spirochetes. *Nature (Lond.)*, 1952, 169, 944-946.
17. BROWN W.J., KUHN U.S.G., TOLLIVER E.A., NORIS L.C. — Syphilis expérimentale chez le chimpanzé. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1970, 46, 198-200. *Curr. Lit. Vener. Dis.*, 1971, 1, 33.
18. BRUMPT E. — *Précis de Parasitologie*, 5^e éd., Masson éd., Paris, 1936.
19. CHALMERS W.S.K., TAYLOR-ROBINSON D. — The effect of reducing and other agents on the motility of *Treponema pallidum* in an acellular culture medium. *J. Gen. Microbiol.*, 1979, 114, 443-447.
20. CHRISTIANSEN S. — Protective layer covering pathogenic treponemata. *Lancet*, 1963, 1, 423-425.
21. CHRISTIANSEN A.H. — Morphology of the colonies of T. Reiter and T. Kazan grown on a solid medium. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 1964, 60, 234-240.
22. COLLART P., BOREL L.J., DUREL P. — Etude de l'action de la pénicilline dans la syphilis tardive. Persistance du tréponème pâle après traitement. I. La syphilis tardive expérimentale. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, 102, 596-615.
23. COLLART P., BOREL L.J., DUREL P. — Significance of spiral organisms found, after treatment, in late human and experimental syphilis. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1964, 40, 81-89.
24. COLLART P., FRANCESCHINI P., DUREL P. — Experimental rabbit syphilis. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1971, 47, 389-400.
25. COLLART P., POGGI G., DUNOYER M., DUNOYER F. — Etudes récentes sur la syphilis tardive expérimentale et humaine. *Europ. Med.*, 1966, 4, 204-218.
26. COLLART P., POGGI M., DUNOYER M., DUNOYER F. — Quelques recherches expérimentales sur le comportement de trois souches de tréponèmes pâles. *Ann. Derm. Syph.*, (Paris), 1968, 95, 59-68.
27. COLLART P. — Le tréponème pâle : Bactériologie. *Rev. Méd.*, 1970, 22, 1265-1274.
28. COLLART P., PECHERE J.C., FRANCESCHINI P., DUNOYER F. — Persisting virulence of *Treponema pallidum* after incubation with penicillin in Nelson-Mayer medium. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1972, 48, 29-31.
29. COONS A.H., CREECH H.J., JONES R.N. — Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1941, 47, 200.
30. COUTTS W.E., COUTTS W.R. — *Treponema pallidum* buds, granules and cysts as found in human syphilitic chancres and seen in fixed unstained smears observed under dark-ground illumination. *Amer. J. Syph.*, 1953, 37, 29-36.
31. CUMBERLAND M.C., TURNER T.B. — The rate of multiplication of T. pallidum in normal and immune rabbits. *Amer. J. Syph.*, 1949, 33, 201-212.
32. DAGUET G.L., BOREL L.J. — La réaction d'adhérence-disparition et son application au diagnostic de la syphilis. *Bull. Soc. Franç. Derm. Syph.*, 1954, 61, 522-525.
33. DAGUET G.L. — Les réactions d'adhérence-disparition. *Bull. Org. Mond. Santé*, 1956, 14, 303-316.
34. DAGUET G.L. — Actualité de la sérologie de la syphilis. *Méd. et Hyg. (Genève)*, 1974, 32, 870-872.
35. DEACON W.E., FALCONE V.H., HARRIS. — Fluorescent treponemal antibody test. Modification based on quantitation (FTA-200). *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, 1960, 103, 827-829.
36. DEACON W.E., FALCONE V.H., HARRIS. — A fluorescent test for treponemal antibodies. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, 1957, 96, 477-480.
37. DELAMATER E.D. — Studies on the life-cycle of spirochetes. *J. Clin. Invest.*, 1950, 29, 808.
38. DELAMATER E.D., WIGGALL R., HAANES M. — Studies on the life-cycle of spirochetes. III. The life-cycle of the Nichols pathogenic *Treponema pallidum* in the rabbit testis as seen by phase contrast microscopy. *J. Exp. Med.*, 1950, 92, 239-246.
39. DELAMATER E.D., WIGGALL R., HAANES M. — Studies on the life-cycle of spirochetes. IV. The life-cycle of the Nichols pathogenic *Treponema pallidum* in the rabbit's testis as visualized by means of stained smears. *J. Exp. Med.*, 1950, 92, 247-252.
40. DELAMATER E.D., HAANES M., WIGGALL R. — Studies on the life-cycle of spirochetes. V. The life-cycle of the Nichols non-pathogenic *Treponema pallidum* in culture. *Amer. J. Syph.*, 1951, 35, 164-179.
41. DELAMATER E.D., HAANES M., WIGGALL R., PILLSBURY D.M. — Studies on the life-cycle of spirochetes. VIII. Summary and comparison of observations on various organisms. *J. Invest. Derm.*, 1951, 16, 231-256.
42. DEMANCHE R. In : *Précis de Bactériologie médicale*. GASTINEL P., 2^e éd., 236-237. Masson éd., Paris, 1957.
43. DUREL P., DAGUET G., BOREL L.J., FRIBOURG-BLANC A. — Réflexions sur la valeur de la sérologie dans le diagnostic et le traitement de la syphilis. *Rev. Prat.*, 1953, 3, 2017-2026.
44. DUREL P. — Sur les réactions sérologiques à antigènes tréponémiques. *Minerva Derm.*, 1955, 1, 38.
45. DYMOWSKA Z., BABUDIERI B. — *RC. Ist. Sup. Sanita*, 1962, 25, 433.
46. EAGLE H., MAGNUSON H.J., FLEISCHMAN R. — Relation of the size of the inoculum and the age of the infection to the curative dose of penicillin in experimental syphilis with particular reference to the feasibility of its prophylactic use. *J. Exp. Méd.*, 1947, 85, 423.
47. FIELDSTEEL A.H., BECKER F.A., STOUT J.G. — Prolonged survival of virulent *Treponema pallidum* (Nichols strain) in cell-free and tissue culture systems. *Infect. Immun.*, 1977, 18, 173-182.
48. FIELDSTEEL A.H., STOUT J.G., BECKER F.A. — Comparative behavior of virulent strains of *Treponema pallidum* and *Treponema pertense* in gradient cultures of various mammalian cells. *Infect. Immun.*, 1979, 24, 337-345.
49. FITZGERALD T.J., JOHNSON R.C., SYKES J.A., MILLER J.N. — Interaction of *Treponema pallidum* (Nichols strain) with cultured mammalian cells : Effects of oxygen reducing agents, serum supplements and different cell types. *Infect. Immun.*, 1977, 15, 444-452.
50. FITZGERALD T.J., JOHNSON R.C., WOLFF E.T. — Mucopolysaccharide material resulting from the interaction of *Treponema pallidum* (Nichols strain) with cultured mammalian cells. *Infect. Immun.*, 1978, 22, 575-584.
51. FITZGERALD T.J., JOHNSON R.C. — Surface mucopolysaccharides of *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.*, 1979, 24, 244-251.
52. FITZGERALD T.J., JOHNSON R.C., WOLFF E.T. — Sulfhydryl oxidation using procedures and experimental conditions commonly used for *Treponema pallidum*. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1980, 56, 129-136.
53. FOSTER J.W., KELLOG D.S., CLARK J.W., BALOWS A. — The in vitro cultivation of *Treponema pallidum* corroborative studies. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1977, 53, 338-339.
54. FRIBOURG-BLANC A., NIEL G., MOLLARET H.H. — Confirmation sérologique et microscopique de la tréponématose du cynocéphale de Guinée. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1966, 59, 54-59.
55. FRIBOURG-BLANC A., MOLLARET H.H. — La tréponématose naturelle du singe africain : Isolement et adaptation au hamster d'une souche de tréponème pathogène. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1968, 68, 135.
56. FRIBOURG-BLANC A., MOLLARET H.H. — Tréponématose spontanée du primate africain. *Méd. Switz.*, 1969, 3, 113-121.
57. FRIBOURG-BLANC A. — Place du TPHA dans le diagnostic sérologique des tréponématoses. Note d'information n° 20, 1980 (communication personnelle).
58. GASTINEL P., MOLLINEDO R. — Sur l'évolution de *Leptospira ictero-haemorrhagiae*. Granule leptospirogène. *C.R. Soc. Biol.*, 1942, 136, 141.
59. GASTINEL P., MOLLINEDO R. — A propos de la présence du granule spirochétogène chez la souris expérimentalement syphilitisée. *C.R. Soc. Biol.*, 1942, 136, 184.

60. GASTINEL P., COLLART P., DUNOYER F. — Etude sur le comportement du tréponème de Reiter en milieu pénicilliné. *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, 96, 381-401.
61. GASTINEL P., VAISMAN A., DUNOYER F. — Problèmes de l'incubation locale de *Spirochaeta pallida* dans la syphilis du lapin. *Ann. Inst. Pasteur*, 1961, 100, 1-12.
62. GRAVES S., BILLINGTON T. — Optimum concentration of dissolved oxygen for the survival of virulent *Treponema pallidum* under conditions of low oxidation reduction potential. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1979, 55, 387-393.
63. GREIFFELT A. — Das *Treponema pallidum* im Elektronenmikroskop. *Minerva Derm.*, 1955, 39, 330-332.
64. HAANES M., DELAMATER E.D., SAURINO V.R. — Studies on the life-cycle of spirochetes. IX. Studies on the filterable phase of spirochetes. *Amer. J. Syph.*, 1952, 36, 38-39.
65. HOFFMANN E., HOFMAN E., MUTZER P. — Morphologie und Biologie der *Spirochaeta Pallida* Experimentelle Syphilis. p. 1 à 95. Julius, Springer Verlag, Berlin, 1927.
66. JACQUET L., SEZARY A. — Des formes atypiques et dégénératives du Tréponème pâle. *Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 1907, 24, 114-116.
67. JEANTET P., KERMOGANT Y. — Sur un caractère permettant de différencier *Treponema pallidum* et *Spirochaeta cuniculi* des autres spirochètes. *C.R. Soc. Biol.*, 1925, 92, 1036-1038.
68. JEPSEN O.P., HOUGEN K.H., ANDERSEN A.R. — Electron microscopy of *Treponema pallidum* Nichols. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 1968, 74, 241-268.
69. JONES R.H., FINN M.A., THOMAS J.J., FOLGER C. — Growth and subculture of pathogenic *T. pallidum* (Nichols strain) in BHK-21 cultured tissue cells. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1976, 52, 18-23.
70. LANDSTEINER, SIMMS. — *J. Exp. Med.*, 1923, 38, 127.
71. LAUNDERDALE V., GOLDMAN J.N. — Serial ultrathin sectioning demonstrating the intracellularity of *T. pallidum*. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1972, 48, 87-96.
72. LEISHMAN W.B. — A note on the « granule-clump » found in *Ornithodoros Moubata* and their relation to the spirochaete of African relapsing fever. *Ann. Inst. Pasteur*, 1918, 32, 49-59.
73. LEVADITI C., MCKINTOSH J. — Contribution à l'étude de la culture de *Treponema pallidum*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1907, 21, 784-797.
74. LEVADITI C., SANCHIS-BAYARRI V., SCHOEN R. — Le virus syphilitique comporte-t-il un cycle évolutif, dont le *Treponema pallidum* n'est qu'une des phases connues. *Ann. Inst. Pasteur*, 1928, 42, 475-494.
75. LEVADITI C., VAISMAN A. — Cycle évolutif du *Treponema pallidum*. *C.R. Soc. Biol.*, 1938, 127, 194-197.
76. LYSKO P.G., COX C.D. — Terminal electron transport in *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.*, 1977, 16, 885-890.
77. LYSKO P.G., COX C.D. — Respiration and oxidative phosphorylation in *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.*, 1978, 21, 462-473.
- 78 a) MIAO R.M., FIELDSTEEL A.H. — Genetics of *Treponema*: Relationship between *Treponema pallidum* and five cultivable treponemes. *J. Bacteriol.*, 1978, 133, 101-110.
- b) MIAO R.M., FIELDSTEEL A.H. — Genetic relationship between *Treponema pallidum* and *Treponema pertense*, two non cultivable human pathogens. *J. Bacteriol.*, 1980, 141, 427-429.
79. MILLER J.N. — Spirochetes in body fluids and tissues. In: *Manual of investigative methods* p. 1-72, Charles C. Thomas éd., Springfield, 1971.
80. MOLINEDO R. — Essai sur le cycle évolutif des spirochètes. Thèse, Paris, 1941.
81. MOREAU M., GIUNTINI J. — Etude au microscope électronique de quatre espèces de tréponèmes anaérobies d'origine génitale. *Ann. Inst. Pasteur*, 1956, 90, 728-737.
82. MORRISON G., EGGLESTONE S.I., NORTHWOOD J.L. — Cultivation of *Treponema pallidum* in subcutaneous chambers implanted in golden hamsters. *Brit. J. Ven. Dis.*, 1979, 55, 320-324.
83. NELSON R.A., MAYER M.M. — Immobilization of *Treponema pallidum* in vitro by antibody produced in syphilitic infection. *J. Exp. Med.*, 1949, 89, 369-393.
84. NELSON R.A., DIESENDRUCK J.A. — Studies on treponemal immobilizing antibodies in syphilis. *J. Immunol.*, 1951, 66, 667-685.
85. NELSON R.A. — The immune adherence phenomenon. An immunologically specific reaction between micro-organisms and erythrocytes leading to enhanced phagocytosis. *Science*, 1953, 118, 733-737.
86. NOGUCHI H. — A method for the pure cultivation of pathogenic *Treponema pallidum* (*Spirochaeta pallida*). *J. Exp. Med.*, 1911, 14, 99-108.
87. NOGUCHI H. — Cultivation of pathogenic *Treponema pallidum*. *J. Amer. Med. Ass.*, 1911, 57, 102 (Abstr.).
88. NOGUCHI H. — A method for cultivating *Treponema pallidum* in fluid media. *J. Exp. Med.*, 1912, 16, 211-215.
89. NOGUCHI H. — Pure cultivation of *Spirochaeta phagedenis* (new species), a spiral organism found in phagedenic lesions on human external genitalia. *J. Exp. Med.*, 1912, 16, 261-268.
90. NOGUCHI H. — *Treponema mucosum* (new species). A mucin-producing *Spirochaeta* from pyorrhoea alveolaris, grown in pure culture. *J. Exp. Med.*, 1912, 16, 194-198.
91. NORRIS S.J., MILLER J.N., SYKES J.A., FITZGERALD T.J. — Influence of oxygen tension sulphydryl compounds and serum on the motility and virulence of *Treponema pallidum* (Nichols strain) in a cell-free system. *Infect. Immun.*, 1978, 22, 689-697.
92. NYKA W. — Le virus syphilitique : ses variations morphologiques, sa multiplication et son action pathogène. *Arch. Inst. Prophyl.*, 1934, 6, 434-435.
93. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Anatomie de *T. Pallidum*. *Vestn. Derm. Vener.*, 1965, 1, 50 et *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1965, 79.
94. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Nouvelles études sur des coupes ultra-fines de *Treponema pallidum* examiné au microscope électronique. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1966, 102, 2-16.
95. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Further studies of the morphology of *Treponema pallidum* under the electron microscope. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1969, 45, 87-116.
96. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Ultrastructure des éléments cellulaires dans un chancre dur et rapports de ces éléments avec *Treponema pallidum*. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1969, 181, 1-9.
97. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Etude de *Treponema pertense* au microscope électronique. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1969, 184, 1-8.
98. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Etude du T.p. au microscope électronique dans le chancre du lapin. *Vestn. Derm. Vener.*, 1969, 45, 14-19.
99. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Ultrafine structure of the cell elements in hard chancres of the rabbit and their interrelationship with *Treponema pallidum*. *Bull. Org. Mond. Santé*, 1970, 42, 437-444.
100. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Current concepts of the morphology and biology of *Treponema pallidum* based on electron microscopy. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1971, 47, 315-328.
101. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Electron microscopy of phagocytosis in syphilis and yaws. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1972, 48, 227-248.
102. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — Atlas de microscopie électronique de quelques représentants du genre Tréponème, *Neisseria* et *Trichomonas*. Moscou Medicina, éd., 1974, p. 1-127.
103. OVCINNIKOV N.M., DELEKTORSKIJ V.V. — *Treponema pallidum* in nerve fibres. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1975, 51, 10-18.
104. OVCINNIKOV N.M. — Attempts at producing a culture of pathogenic *Treponema pallidum*. Journées Dermatologie-Vénérologie (Moscou), 1978, 19-23.
105. OVCINNIKOV N.M. — How should the results of serological tests for syphilis be interpreted. 3-8, Journées Dermatologie-Vénérologie (Moscou).
106. PILLOT J., DUPOUEY P., RYTER A. — La signification des formes atypiques et la notion de cycle chez les spirochètes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1964, 107, 484-501 et 663-677.
107. PILLOT J. — Contribution à l'étude du genre *Treponema*: structures anatomiques et antigéniques. Thèse, Paris, 1965.
108. RATHLEV T. — Utilisation d'antigènes extraits de *Treponema pallidum* pathogène et non pathogène dans les épreuves d'hémagglutination. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1965, 77.
109. RATHLEV T. — Sérodiagnostic de la syphilis par un test d'hémagglutination utilisant l'antigène de *Treponema pallidum* pathogène. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1967, 118.
110. RATHLEV T. — Cultivation of *Treponema pallidum* in chambers surgically implanted in experimental animals. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 1973, 81, 269-271.
111. REITER H. — Über Fortzucht von Reinkulturen der *Spirochaeta pallida*, *Sp. dentium* und *Sp. recurrentis*. *Klin. Wschr.*, 1926, 5, 444-445.
112. ROSAHL P.D., GUEFT B., ROWE C. — Experimental mouse syphilis. I. Organ distribution of the infectious agent. *Amer. J. Syph.*, 1948, 32, 327.
113. SACHS, KLOPSTOCK, WEIL. — *Dtsch. Med. Wschr.*, 1925, 51, 1017.
114. SANDOK P.L., KNIGHT S.T., JENKIN H.M. — Examination of various cell culture techniques for coinoculation of virulent *Treponema pallidum* (Nichols I strain) under anaerobic conditions. *J. Clin. Microbiol.*, 1976, 4, 360-371.
115. SANDOK P.L., JENKIN H.M. — Radiolabelling of *Treponema pallidum* (Nichols virulent strain) in vitro with precursors for protein and RNA biosynthesis. *Infect. Immun.*, 1978, 22, 22-28.
116. SANDOK P.L., JENKIN H.M., MATTHEWS H.M., ROBERTS M. S. — Unsustained multiplication of *Treponema pallidum* (Nichols virulent strain) in vitro in the presence of oxygen. *Infect. Immun.*, 1978, 19, 421-429.
117. SCHAUDINN F., HOFFMANN E. — Über *Spirochaeta pallida* bei Syphilis und die Unterschiede dieser Form gegenüber anderen Arten dieser Gattung. *Berl. Klin. Wschr.*, 1905, 42, 673-675.
118. SCHAUDINN F., HOFFMANN E. — Über *Spirochaetenbefunde* im Lymphdrüsen saft syphilitischer. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1905, 31, 711-714.

rence-dispari-
l. Soc. Franç.

no. Bull. Org.

hilis. Méd. et

rescent trepon-
n (FTA-200).

orescent test
(.), 1957, 96,

irochetes. J.

— Studies on
ols pathoge-
base contrast

— Studies on
ols pathoge-
ed by means

— Studies on
ols non-pa-
l. 1951, 35,

ILLSBURY
mary and
ext. Derm.,

ASTINEL.

BLANC A.
ic et le trai-

tréponémi-
nia, 1962,

Relation of
he curative
ference to
5, 423.

Prolonged
in cell-free
2.

Comparative
Treponema
ls. Infect.

MILLER
) with cul-
ts, serum
, 15, 444.

Mucopoly-
ema palli-
Immun.,

ysacchari-
51.

Sulphydryl
ommonly
129-136.

VS A. —
e studies.

— Confir-
u cynocé-

nématose
ter d'une
1968, 68,

nématose

stic séro-
(commu-

ptospira
l., 1942,

sence du
phalissée.

119. SCHILLER N.L., COX C.D. — Catabolism of glucose and fatty acids by virulent *Treponema pallidum*. *Infect. Immun.*, 1977, 16, 66-68.
120. SEGUIN P. — La granule spirochétogène : étude morphologique et biologique. *Ann. Derm. Syph.*, 1940, 10, 833-861.
121. SEGUIN P. — A propos du granule spirochétogène. *C.R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1159-1161.
122. SEZARY A., BOLGERT M., CUVEREAUX M., MOLLINEDO R.H. — Syphilis papulo-granuleuse. Etude histologique et microbiologique. *Ann. Derm. Syph.*, 1942, 11, 508.
123. SEZARY A., MOLLINEDO R.H. — Le Tréponème pâle. Cultures et caractères biologiques. Reproduction et évolution. EMC, 1944, 3003 B.
124. SEPETJIAN A.M., THIVOLET J., LEUNG-TACK J., MONIER J.C. — Utilisation d'antiglobulines marquées à la peroxydase pour le diagnostic immunologique de la syphilis. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1973, 73, 300.
125. SIMON C., MOLLINEDO R.M. — Diagnostic de la syphilis par recherche du granule spirochétogène. *Presse Méd.*, 1940, 46, 513.
126. SIMON C., MOLLINEDO R.M. — Le granule spirochétogène dans les gommés syphilitiques cutanées. *Presse Méd.*, 1941, 37, 464.
127. SIMON C., MOLLINEDO R.M. — A propos du granule spirochétogène. *Presse Méd.*, 1943, 46, 685.
128. STERNBERGER L.A., HARDY P.H. Jr, CUCULIS J.J., MEYER H.G. — The unlabelled antibody enzymes method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen antibody complexes (Horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *Wld Hlth Org. VDT Res.*, 1970, 70, 193.
129. SWAIN R.H.A. — Electron microscopic studies of the morphology of pathogenic spirochaetes. *J. Path. Bact.*, 1955, 69, 117-128.
130. SWAIN R.H.A. — Structure of *Treponema pallidum* as recreated by electron microscopy. Paper presented to the First International Symposium on Venereal Diseases and the Treponematoses, Washington. *Curr. Lit. Vener. Dis.*, 1956, 102 (Abstr.).
131. SYKES J.A., MILLER J.N., KALAN A.J. — *Treponema pallidum* within cells of a primary chancre from a human female. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1974, 50, 40-44.
132. TIGHT R.R., PERKINS R.L. — *Treponema pallidum* infection in subcutaneous polyethylene chambers in rabbit. *Infect. Immun.*, 1976, 13, 1606-1612.
133. TOURAINE A. — *Traité de la syphilis* p. 9-151. Doin éd., Paris, 1931.
134. TURNER T.B. — Protective antibodies in the serum of syphilitic rabbits. *J. Exp. Med.*, 1939, 69, 867-890.
135. TURNER T.B., HOLLANDER D.H. — Biology of the treponematoses. Geneva. *Wld Hlth Org. Monograph Series*, 25, 1957.
136. WALTER E.K., SMITH J.L., ISRAEL C.W., GAGER W.E. — A new modification of the Krajan silver stain for *Treponema pallidum*. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1969, 45, 6-9.
137. WILE U.J., PICARD R.G., KEARNEY E.B. — The morphology of *Spirochaeta pallida* in the electron microscope. *J. Amer. Med. Ass.*, 1942, 119, 880-881.
138. WRZOLKOWA T., KOZAKIEWICZ J. — Ultrastructure of vascular and connective tissue changes in primary syphilis. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1980, 56, 137-143.
139. ZIEGLER J.A., JONES A.M., JONES R.H., KUBICA K.M. — Demonstration of extracellular material at the surface of pathogenic *T. pallidum* cells. *Brit. J. Vener. Dis.*, 1976, 52, 1-8.

