

Transmission cyclique expérimentale de certains trypanosomes pathogènes africains

par L. MAILLOT

RESUME

La transmission d'une souche de *T. congolense* a été réalisée au laboratoire, au début pendant deux ans et demi, tantôt par voie directe, tantôt par voie cyclique, ensuite pendant six mois uniquement par voie cyclique.

Les résultats obtenus dans ces essais et les expériences d'autres chercheurs permettent d'établir quelles sont probablement les meilleures conditions pour réaliser efficacement au laboratoire des transmissions cycliques capables de contribuer à beaucoup de recherches relatives à certaines trypanosomiasés africaines pathogènes et peut-être susceptibles de fournir des indications utiles dans les domaines de l'épidémiologie et de l'immunologie.

Les différentes techniques à employer au cours des trois phases : infection de la mouche, entretien de la mouche et infection de l'animal sont présentées et discutées.

Deux nouvelles techniques, qui ont récemment apporté de grosses améliorations aux différentes recherches utilisant la transmission cyclique sont brièvement exposées : la congélation des trypanosomes et l'alimentation des tsé-tsé à travers membrane sur milieux sanguins.

INTRODUCTION

Dans la transmission expérimentale des trypanosomiasés africaines beaucoup d'auteurs ont souligné depuis longtemps les grandes différences observées suivant le mode de transmission, direct ou cyclique, non seulement dans la maladie, mais aussi chez le parasite, en particulier dans sa morphologie, sa sensibilité aux médicaments et plus récemment ses caractères antigéniques.

BROOM et BROWN (2) ont décrit le phénomène particulier du retour d'une souche déterminée après transmission cyclique à un type antigénique constant dit type antigénique de base. GRAY (11, 12, 13, 14) a repris ces recherches et observé que pour une souche donnée de *T. brucei*, quels que soient les variants antigéniques, le type antigénique de base persiste chez la glossine après transmission cyclique.

Cependant, avec cet antigène de base, d'autres variants antigéniques peuvent se présenter chez la tsé-tsé. La succession chez l'animal non immun de l'antigène de base et de divers variants antigéniques est identique, que la transmission ait été cyclique ou directe.

Des essais d'immunisation contre une souche donnée en utilisant la transmission cyclique sont peut-être appelés, dans un avenir plus ou moins éloigné, à se montrer efficaces et, du point de vue épidémiologique, la mise en évidence de l'antigène de base d'une souche transmise dans une région donnée pourrait fournir des indications utiles. Mais l'apparition chez la mouche vectrice de variants en même temps que l'antigène de base rend un peu aléatoire ces espoirs d'immunisation et de diagnostic.

Le non-retour par transmission cyclique d'une souche uniquement au type antigénique de base peut s'expliquer selon LUMSDEN (18)

par l'impossibilité de certains variants de revenir au type antigénique de base ou par l'existence de plusieurs antigènes de base ou par la transmission directe adjointe accidentellement à la transmission cyclique.

Il reste toutefois l'espoir d'établir des techniques de transmission cyclique plus élaborées susceptibles de donner des résultats plus constants et plus concluants qui permettraient d'atténuer l'imprécision des résultats obtenus jusqu'ici.

ELEVAGES AUTONOMES

Leur nécessité

Quand un repas a, chez la tsé-tsé, précédé le repas infectant, l'aptitude de celle-ci à produire une infection salivaire à *T. gambiense* est diminuée (VAN HOOFF, et al., 1937). La transmission de *T. gambiense* est accrue chez des *Glossina palpalis* jeunes et ne s'étant pas encore nourries (WIJERS, 1958). L'utilisation des mouches jeunes paraît donc indispensable pour obtenir expérimentalement chez la tsé-tsé la transmission optimale des trypanosomes du groupe *brucei*, d'où résulte la nécessité de disposer ou de pupes récoltées dans la nature ou de mouches jeunes d'un élevage autonome. Des mouches âgées peuvent s'infecter mais beaucoup plus rarement. Ces conditions (mouches jeunes et à leur premier repas) ne semblent pas devoir être requises pour *T. vivax*, mais paraissent les mêmes pour *T. congolense* (3, 20) que pour les trypanosomes du groupe *brucei*.

Leur réalisation

Les difficultés d'établissement des élevages autonomes et les moyens de les surmonter ont été bien décrits par NASH (1963) et, au cours de ces dernières années, plusieurs élevages autonomes ont été entrepris en Europe avec succès, au Portugal (Lisbonne), en Grande-Bretagne (Langford-Bristol), en France (Maisons-Alfort) en Belgique (Anvers).

Leur grandeur éventuelle

L'expérimentateur, surtout s'il ne bénéficie pas directement d'un élevage, peut subordonner la fréquence des essais de transmission cyclique au nombre de pupes ou de jeunes mouches dont il peut disposer. Inversement, il peut créer et

entretenir un élevage autonome dont l'excédent de production correspondra au nombre de mouches nécessaires à une transmission cyclique au moins.

Quel doit donc être le nombre de mouches à utiliser et quelle doit être la grandeur correspondante de l'élevage à entretenir ?

Le nombre de mouches à utiliser peut être évalué, ou par les résultats d'essais antérieurs ou par estimation.

L'auteur au cours de ses expérimentations a observé la transmission cyclique de la souche E.A.T.R.O. 325 (*T. congolense*) : à la souris avec des lots de 14 mouches au moins, généralement avec 30 à 40, au lapin avec 14 mouches au moins, généralement avec 100 à 200, au cobaye une seule fois avec un lot de 136 mouches, tous les autres lots ne dépassant pas cette valeur n'ont pu infecter cette espèce.

L'estimation ne peut être que très approximative; se basant sur le taux d'infection salivaire prévisible, l'âge de la mouche et la réceptivité de l'animal.

Le taux d'infection salivaire peut être considéré comme un taux de transmissibilité — homologue de l'index de transmissibilité de DUKE (5) — il varie suivant les espèces et les souches trypanosomiennes : très élevé dans le groupe *vivax*, moindre dans le groupe *congolense*, le plus faible dans le groupe *brucei*, sauf pour quelques souches de *T. rhodesiense*, en général très faible avec *T. gambiense*. Les souches utilisées seront de préférence choisies parmi celles isolées récemment chez l'homme ou chez l'animal ou parmi les stabilats isolés dans de bonnes conditions à des dates pas trop éloignées. Mais tous les trypanosomes salivaires ne doivent pas être infectants à en juger d'après les résultats des expériences de LUMSDEN et al. (1963), et l'élimination de trypanosomes infectants n'est pas identique à tous les repas, à tout moment, ni pour toutes les mouches (27, 15, 29).

L'âge de la mouche doit être au minimum de 15 à 16 jours, l'optimum est de 20 à 25 jours, au-delà une trop grande mortalité comme la possibilité d'une dégénérescence des trypanosomes salivaires (4, 25, 21) entraîne une diminution du nombre des mouches infectantes et partant un amoindrissement des possibilités d'infection.

La réceptivité de l'animal sera d'autant plus grande (pour la même quantité de trypanosomes inoculés) que le poids de l'animal est moins élevé, mais il existe dans chaque espèce parfois de fortes variations individuelles de la réceptivité surtout chez la souris.

L'emploi a priori de lots de mouches très importants est à déconseiller dans la mesure où l'on veut assurer sans trop de difficultés le contrôle de l'infection chez la mouche.

D'après le nombre de mouches à utiliser, peut-on évaluer la valeur de l'élevage à entretenir ? Ce problème a été étudié, pour l'application de la méthode des mâles stériles, chez deux espèces, *G. austeni* et *G. morsitans* par CURTIS et JORDAN (JORDAN et CURTIS, 1968, 1972; CURTIS et JORDAN, 1970). Ces deux auteurs évaluent pour *G. austeni* un rendement de 20 à 30 pour cent de jeunes mâles pour un effectif donné de femelles reproductrices. Pour les espèces de tsé-tsé en élevage à Maisons-Alfort, ce rendement peut être très approximativement évalué aux alentours de 10 pour 100.

INFECTION DE LA MOUCHE

L'animal infectant

Le choix de l'animal infectant est de tous les facteurs en cause celui qui permet d'obtenir le mieux une transmission cyclique efficace. Dans la transmission cyclique dans la nature, certains auteurs ont souligné le rôle prédominant de l'animal infectant (HARLEY, JORDAN, ONYANGO, CLARKE). Au laboratoire, suivant l'espèce animale, à leur premier repas, chaque espèce de glossine s'alimente différemment (20) : *G. morsitans* se nourrissant sur tous les animaux présentés, facilement sur lapin, cobaye, et souris, et très facilement (au cours d'essais de transmission de *T. gambiense* Féo (22) sur le rat blanc, *G. austeni* se nourrissant mieux sur le lapin que sur la souris ou le cobaye, *G. tachinoides* se nourrissant bien sur le lapin, médiocrement sur le cobaye, très mal sur la souris. Les autres facteurs à retenir pour une bonne transmission sont le choix de l'hôte pour l'entretien de la mouche, de l'animal récepteur; chez la mouche différents caractères : sexe, âge et certaines conditions de vie (16).

Les animaux de laboratoire le plus couramment disponibles sont le cobaye, le lapin, la souris et le rat blanc. Pour le cobaye et le lapin, des appareils de contention sont utilisés et les mouches se gorgent sans difficultés. Mais pour la souris et le rat blanc, une anesthésie préalable est nécessaire, l'auteur a obtenu de bons résultats en employant des injections de Nesdonal (thiopental sodique), intrapéritonéales chez la souris, sous-cutanées chez le rat blanc. Le pouvoir infectant de la souris s'est montré dans les essais de l'auteur comme très variable; aussi paraît-il indiqué de faire piquer une même souris successivement par plusieurs cages de mouches. L'auteur a également pratiqué chez la souris des anesthésies très courtes par inhalation d'éther, mais la sensibilité de la souris à cette forme d'anesthésie est très irrégulière; cette anesthésie est souvent mortelle pour des animaux très infectés. Les vapeurs d'éther qui imprègnent le pelage de la souris n'ont pas d'effets nocifs sur les mouches, pas plus que le Nesdonal passé dans la circulation.

Transmissibilité des souches

Certaines souches cessent parfois d'être transmissibles ou ne sont plus transmissibles que dans certaines conditions : ainsi la souche E.A.T.R.O. 325 dans les essais de l'auteur (21) a cessé d'être transmissible par *G. austeni* au-delà du 41^e passage, tandis que le 50^e passage était encore assuré par *G. morsitans*. Dans la dernière épreuve où ont été employées en même temps *G. morsitans* et *G. austeni*, les taux d'infection salivaire, hypopharyngienne, de l'une et l'autre espèces étaient significativement différents ($P = 0,01$), mais les index d'infectivité de DUKE (5) ou taux d'infection intestinale ne l'étaient pas. Il faut cependant signaler que, dans cette épreuve, deux souches filles de la souche E.A.T.R.O. 325 ont été utilisées, l'une pour *G. morsitans*, l'autre pour *G. austeni*, des deux souches filles, celle non transmissible par *G. austeni* avait déjà, par voie directe, la transmissibilité la moins forte.

Le repas infectant

La parasitémie de l'animal infectant. Pour la transmission de la souche E.A.T.R.O. 325, comme en général pour d'autres souches, les parasitémies les plus accentuées ne donnent pas obligatoirement les meilleures transmissions

et la période la plus favorable à la transmission cyclique et à la transmission directe paraît se situer au début d'une poussée parasitémique.

Beaucoup d'auteurs ont considéré les formes courtes comme des formes infectantes, d'autres attribuent le rôle infectant aux formes grêles, VAN HOOFF (1947) dénie toute influence dans l'infection à la morphologie du parasite.

Sensibilité de la mouche à l'infection

Les expériences réalisées par l'auteur (20, 21) ont vérifié que l'optimum pour l'infection de la mouche se situe entre 24 et 48 heures après l'éclosion, et que la majorité des mouches prennent spontanément leur premier repas le deuxième jour après l'éclosion; les femelles ont paru (d'après quelques pesées) prendre un premier repas moins abondant que les mâles, mais il n'y avait pas de différence significative des taux d'infection salivaire entre les deux sexes. Par ailleurs, l'auteur a noté chez *G. austeni* des infections salivaires proportionnellement moins nombreuses chez les femelles vierges que chez des femelles fécondées après le repas infectant, cette différence, toutefois, n'était pas significative. La quantité plus ou moins grande de sang ingéré aurait peut-être une action sur l'évolution ultérieure des trypanosomes ingérés (1).

Il paraît préférable que le repas de la tsé-tsé sur l'hôte infectant soit unique, surtout dans le cas de recherches immunologiques, comme le conseille GRAY (12), par la suite les mouches seront nourries sur un hôte intermédiaire.

ENTRETIEN DES MOUCHES

Hôte intermédiaire

Du repas infectant au repas infectieux la tsé-tsé peut être alimentée sur un hôte distinct de l'animal infectant. Au laboratoire sont habituellement disponibles le cobaye, le lapin ou la poule. Certaines observations relatives aux cultures de *T. brucei* (AMREIN et al., 1965; AMREIN et HANNEMANN, 1969) donnent à penser que, dans certains cas, pour l'alimentation des mouches d'expérience, cobaye ou lapin peuvent se comporter comme des donneurs défavorables (unsuitable donors). Mais, dans les derniers essais de l'auteur, un lapin, que des mouches avec infection salivaire

n'avaient pu contaminer (donc très probablement donneur défavorable), a été employé comme hôte intermédiaire et les mouches entretenues sur celui-ci ont néanmoins pu infecter des souris, un mouton et d'autres lapins. Des observations de GEIGY et al. (1971) laissent présumer que c'est plutôt le choix de l'espèce animale qui joue le plus grand rôle, de même VAN VEGTEN (1971) a confirmé l'action défavorable de l'alimentation de tsé-tsé sur des animaux à sang froid dans l'évolution des trypanosomes chez celles-ci.

L'auteur a utilisé la poule comme hôte intermédiaire, les tsé-tsé se gorgent facilement sur celle-ci, mais moins rapidement que sur le lapin. La contention de la poule est facile à réaliser (17, fig. 273). L'avantage dans l'emploi de cette espèce est qu'elle présente vis-à-vis des trypanosomes des mammifères le plus souvent une infection inapparente, difficilement ou non transmissible, caractéristique d'une immunité naturelle mais incomplète (26; 9 pp. 11-12).

Survie des mouches

Le cycle de *T. congolense* est au minimum de 15 jours chez la mouche, le cycle de *T. gambiense* et d'autres trypanosomes du groupe *brucei* est habituellement estimé de 18 à 35 jours, la période d'infection maximale pour l'animal doit se situer en général du 20^e au 25^e jour après le repas infectant. La survie des mouches doit donc être assurée pendant cette période en réalisant les conditions optimales de température, d'humidité et d'alimentation.

Les conditions d'humidité et de température sont celles d'une salle d'élevage (ITARD et MAILLOT, 1966, 1970).

Les conditions d'alimentation dépendent de l'hôte intermédiaire choisi en fonction des préférences trophiques de l'espèce de la tsé-tsé utilisée. Des animaux de grande taille peuvent être aussi avantageusement employés : les chèvres, les moutons (NASH et KERNAGHAN, 1964; NASH et al., 1968), également les veaux (JORDAN et al., 1966) et les porcs; ces derniers sont peu maniables en dehors de jeunes animaux et de certaines races. L'importance et la fréquence des repas jouent un grand rôle dans la survie comme dans la reproduction des mouches, la fréquence des repas quotidiens, six jours sur sept, généralement adoptée est satis-

faisante, l'auteur a ainsi obtenu des taux de survie de 80 p. 100 aux premiers essais à 88 p. 100 aux derniers essais.

LA PHASE INFECTIEUSE

L'animal récepteur

Les variations de la réceptivité de l'animal à l'infection cyclique paraissent dépendre de l'espèce animale choisie, de variations individuelles et de la technique employée.

Le cobaye est un récepteur irrégulier et en général peu sensible à la plupart des trypanosomes, le lapin et la souris se sont montrés plus sensibles à l'infection cyclique par *T. congolense*, le lapin a résisté quelquefois à ce trypanosome inoculé par la mouche, mais a fait le plus souvent des formes chroniques aboutissant à la guérison avec disparition plus ou moins rapide de la parasitémie (un phénomène analogue à celui observé par WATSON, 1962, dans l'infection du porc par *T. gambiense*). Avec la souche E.A.T.R.O. 325 de *T. congolense*, l'auteur a également observé que dans la transmission cyclique la souris réagissait irrégulièrement : ou ne s'infectait pas, ou faisait des formes chroniques, ou le plus souvent des formes aiguës et mortelles.

La pathogénicité d'une souche entretenue par voie directe peut s'affaiblir ou disparaître, par voie cyclique peut également connaître des modifications suivant le vecteur (WILLETT, 1956; HARLEY et WILSON, 1968).

L'incubation chez l'animal récepteur est toujours plus longue dans la transmission cyclique que dans la transmission directe, la durée de cette incubation est peut-être chez le même récepteur influencée par l'espèce de l'animal donneur; l'auteur a ainsi observé, dans la transmission cyclique de *T. congolense* de cobaye à souris (3 cas) une incubation moyenne de 15 jours, de lapin à souris (11 cas) 15 jours, de souris à souris (9 cas) 11 jours.

L'anesthésie (pour le rat et la souris) doit être pratiquée plus soigneusement que pour l'animal infectant, la survie de l'animal, si l'on continue la transmission, devant atteindre une période au moins égale à la durée de l'incubation.

Le repas infectieux

Les tsé-tsé nourries sur l'hôte intermédiaire doivent être, de préférence, gardées à jeun de 24 à 48 heures avant d'être placées sur l'animal à infecter. Il n'est pas indispensable que l'insecte se soit fortement gorgé pour qu'il y ait infection de l'animal. Avant l'ingestion du sang, la tsé-tsé émet déjà de la salive contenant ou non des trypanosomes infectieux, cette émission se poursuit vraisemblablement pendant tout le repas (7).

Il est indiqué, du fait des variations individuelles de réceptivité, fréquentes surtout chez la souris, d'employer le même lot de mouches pour plusieurs animaux et, pour augmenter les chances de contamination, d'exposer le même animal à différents lots de mouches.

CONTROLE DE L'INFECTION

Chez l'animal récepteur

Ce contrôle est fait par examen du sang à l'état frais, en goutte épaisse et par étalement coloré. Celui-ci permet le diagnostic de l'espèce et les mensurations quelquefois caractéristiques des sous-espèces (FAIRBAIRN, 1962; GODFREY, 1960, 1961).

L'ancienne et classique triple centrifugation du sang pourrait être avantageusement remplacée par la nouvelle technique de WOO (1970) utilisant l'hématocrite de Hawksley.

Des mouches jeunes ou âgées présentent, dans les quatre jours qui suivent un repas sur un animal infecté, une quantité plus ou moins abondante de trypanosomes dans l'intestin postérieur, ce phénomène plus ou moins persistant peut être utilisé comme moyen de diagnostic (8, 22).

Chez la mouche

Se borner au contrôle de l'infection chez l'animal en négligeant de contrôler l'infection chez les mouches utilisées ne nous donne que des indications incomplètes sur la réceptivité de l'animal dans les conditions de l'expérience et nous prive ainsi de renseignements utiles pour maintenir ou modifier ces conditions.

La présence des trypanosomes chez les mouches peut être mise en évidence par plusieurs procédés :

1. dissection des mouches et recherches des trypanosomes dans les organes susceptibles de les héberger;
2. alimentation de la mouche à travers membrane sur milieu sanguin et recherche des trypanosomes dans ce milieu avec éventuellement leur numération ou la mise en pratique du test de LUMSDEN et al. (19);
3. épreuve de salivation provoquée chez la mouche (BURTT, 1946).

Dans le 2^e et 3^e procédé, il est difficile d'établir dans quelle mesure la salivation de la mouche dans ces épreuves correspond à la piqûre de la mouche dans des conditions naturelles. Le premier procédé est, selon l'auteur, celui susceptible de donner les renseignements les plus complets sur la présence chez la mouche de trypanosomes potentiellement infectants.

Il est exceptionnel dans les groupes *brucei* et *congolense* de trouver des trypanosomes salivaires en l'absence de trypanosomes intestinaux comme le signale DUKE (4, p. 435) pour le groupe *brucei* et, comme l'a constaté l'auteur, pour *T. congolense*; aussi peut-on, dans ces deux groupes de trypanosomes en l'absence de trypanosomes intestinaux, négliger la recherche de trypanosomes salivaires.

L'examen de la trompe comprend examen du labre et de l'hypopharynx; il est indispensable que ces deux derniers soient séparés et isolés pour éviter en particulier l'omission des infections légères par *T. congolense* qui se cantonnent à la base du labre (HOARE, L'ANGE-RON, CLARKE).

Le nombre des trypanosomes expulsés par la mouche diffère suivant l'espèce du trypanosome expérimenté, également à chaque repas et suivant l'âge de la mouche. Les trypanosomes expulsés sont moins nombreux dans les groupes *vivax* et *congolense*, où seules les formes de l'hypopharynx doivent être infectantes, que dans le groupe *brucei*, où trypanosomes de l'hypopharynx et des glandes salivaires sont infectants (29, 15, 27).

L'auteur a par ailleurs constaté, chez des mouches ayant contaminé la souris par *T. congolense*, la présence de formes intestinales (trypanostigotes procycliques) et, sur le labre, de formes crithidia (épimastigotes) en l'absence de trypanosomes dans l'hypopharynx; il est probable qu'au cours du repas infectieux ces

mouches avaient éliminé tous les trypanosomes de l'hypopharynx, cette hypothèse semble plutôt devoir être retenue que celle attribuant, selon WARD et BELL (1971), un rôle infectant aux trypanosomes d'origine proventriculaire.

TECHNIQUES D'APPOINT

Deux techniques ont récemment apporté une aide précieuse aux différentes recherches utilisant la transmission cyclique : la congélation des trypanosomes et l'alimentation des tsé-tsé à travers membrane.

Conservation prolongée des trypanosomes à basse température

Depuis une vingtaine d'années, des études expérimentales nombreuses et approfondies relatives à l'action du froid sur les spermatozoïdes et divers organismes ou protozoaires pathogènes ont permis l'élaboration de diverses techniques de congélation de trypanosomes, dont on parvient ainsi à conserver vitalité et pathogénicité pendant plusieurs années. Dans ces techniques, certains facteurs ont un rôle important : rapidité ou lenteur de la congélation ou de la décongélation, emploi de certaines substances favorisant la conservation des trypanosomes; les corps réfrigérants employés avec efficacité ont été successivement : neige carbonique puis azote liquide.

Parmi les exposés les plus récents de travaux expérimentaux et de différentes techniques sont à mentionner ceux de MOLINARI et MONTEZIN (1956), POLGE et SOLTYS (1957), CUNNINGHAM et HARLEY (1962), DESCHIENS et MOLINARI (1963), CUNNINGHAM et al. (1963), LAPIERRE et TRAN-VAN-HINH (1968), MINTER et GOEDBLOED (1971).

La souche de *T. congolense* utilisée par l'auteur depuis décembre 1967 provenait d'un stabilat (E.A.T.R.O. 325) isolé cinq ans auparavant par SOUTHON en Afrique orientale. A partir de cette souche, sept souches filles, ayant toutes passé par la tsé-tsé ont été congelées par le Docteur PERREAU à l'I.E.M.V.T.

De nombreux auteurs ont souligné les avantages de cette technique, en particulier GRAY (11) qui écrit : « *the antigenic characteristics*

of strains are now be preserved for many months by these improved techniques » (les caractères antigéniques des souches sont maintenant conservés pendant de longs mois par ces techniques améliorées) et de même DUXBURY et SADUN (1970) au cours de leurs essais de vaccination.

Alimentation à travers membrane

Les premiers essais d'alimentation des glossines à travers membrane et sur milieux sanguins ont été réalisés il y a déjà une soixantaine d'années (RODHAIN et al., 1913; YORKE et BLACKLOCK, 1915), mais c'est surtout depuis une dizaine d'années, comme se créaient en Afrique et en Europe des élevages autonomes, que ces méthodes ont présenté un regain d'intérêt aux fins de simplifier l'alimentation des mouches d'élevage avec l'espoir d'obtenir d'aussi bons résultats dans la survie et la reproduction qu'avec l'alimentation sur l'animal.

Les principales épreuves des expérimentateurs ont porté sur le choix de la membrane, des milieux sanguins nutritifs et du mode de prévention de la coagulation.

Récemment, des membranes d'origine animale ont été encore utilisées : peau de rat, baudruche (GALUN et MARGALIT, 1970), côlon de bœuf (ROGERS, 1971), mais l'emploi de membranes synthétiques d'acquisition facile ou de fabrication simple devient plus fréquent : fibrine imprégnant de la gaze chirurgicale (KIMBER et HARLEY, 1965), membrane de fibrine et membrane de gélose (AZEVEDO et al., 1968), membrane de gélose sur tulle de térylène à grosses mailles (LANGLEY, 1971; LANGLEY et MALY, 1969), membrane de silicone (PAGOT, ITARD et CHOMAT, 1972).

L'épaisseur de la membrane paraît jouer un certain rôle, en dehors du fait qu'elle doit pouvoir être percée par la trompe de la tsé-tsé, une trop faible épaisseur n'est cependant pas recommandée : la membrane de gélose sur tulle de térylène doit avoir au moins 2 mm d'épaisseur (LANGLEY et MALY, 1969), pour certaines membranes de silicone les épaisseurs les plus élevées 10 et 20/100 de mm donnent les meilleurs résultats (PAGOT et al., 1972).

L'adjonction sous la membrane de substances poreuses : mousse de polystyrène ou coton paraît favoriser l'ingestion du sang par la tsé-tsé (LANGLEY et MALY, 1969).

Pour éviter la coagulation, les expérimentateurs ont utilisé ou la défibrination ou divers anticoagulants. La défibrination paraît avoir donné de moins bons résultats que l'emploi de citrate de soude ou de la solution d'Alsever qui en contient. D'autres produits anticoagulants ont été utilisés avec succès dans des cultures de trypanosomes : héparine, acide polyvinylsulfurique (N.I.T.R., 1966).

Certains produits facilitent l'alimentation de la mouche comme le développement des trypanosomes : solution de glucose, solution d'Alsever. De meilleurs résultats sont obtenus par adjonction de certaines enzymes (AZEVEDO et al., 1968) et surtout de triphosphate d'adénosine (GALUN et MARGALIT, 1970; LANGLEY, 1971).

Ces méthodes d'alimentation artificielle présentent par ailleurs un grand intérêt pour la mise en application de la technique de LUMSDEN et al. (19); certains procédés avaient permis jusqu'ici une estimation globale approximative des trypanosomes émis par la tsé-tsé, au cours d'une piqûre ou d'un repas et, dans certains cas, la proportion des formes immatures (FAIRBAIRN et BURTT, 1946; WILLETT et GORDON, 1957). En appliquant la technique de LUMSDEN et al., plusieurs auteurs ont estimé le nombre des trypanosomes infectants émis par une mouche au cours d'un repas sur milieu sanguin à travers membrane : pour *T. brucei* et *T. rhodesiense* (27), pour *T. rhodesiense* (15), pour *T. congolense* (29).

L'alimentation artificielle a été réalisée, non seulement sur milieux sanguins, mais également sur des milieux de culture de trypanosomes, les trypanosomes ainsi ingérés par la mouche ont pu, dans certains cas, accomplir chez celle-ci un cycle complet jusqu'au stade infectieux terminal, cas de *T. rhodesiense* (10) et de *T. brucei* (24).

L'alimentation artificielle à travers membrane est donc susceptible de fournir des renseignements intéressants du point de vue pouvoir infectieux, cependant le repas pris dans ces conditions ne représente que très imparfaitement le repas pris sur l'animal dans la nature et au laboratoire. Le rapprochement

entre les deux modes d'alimentation paraît d'autant plus discutable que, dans toutes ces expérimentations, les résultats obtenus chez la mouche d'élevage (survie, reproduction) sont largement inférieurs à ceux obtenus par alimentation sur l'animal.

CONCLUSIONS

La transmission cyclique est susceptible d'apporter dans beaucoup de cas des indications plus intéressantes que la transmission directe employée le plus souvent en raison de sa facilité d'exécution.

Certaines des indications de la transmission cyclique concernent les recherches relatives aux caractères antigéniques de certaines souches dans plusieurs espèces trypanosomiennes, il demeure ainsi possible d'obtenir suivant les résultats des renseignements épidémiologiques de valeur et des procédés pratiques d'immunisation d'application étendue.

La réussite de la transmission cyclique nécessite l'observation d'un certain nombre de règles : réalisation des conditions optimales d'un élevage autonome et exécution des différentes modalités de transmission cyclique qui se sont montrées les plus efficaces.

Dans les épreuves de transmission cyclique, le lapin et la souris sont parmi les animaux de laboratoire ceux dont l'emploi paraît le plus utile.

Deux méthodes sont par ailleurs susceptibles d'être d'un grand recours dans les recherches que se propose la transmission cyclique : la conservation prolongée des trypanosomes par le froid, méthode sérieusement étudiée depuis plus d'une dizaine d'années et paraissant actuellement bien au point; et l'alimentation des tsé-tsé à travers membrane sur milieux sanguins, méthode aujourd'hui à l'étude et dont les résultats encore médiocres sont peut-être en mesure d'être améliorés.

SUMMARY

The experimental cyclical transmission of certain african pathogenic trypanosomes

The experiments by Broom and Brown and later on by Gray have evidenced the possibility of obtaining by means of experimental cyclical transmission some information on the epidemiology and immunology of several african trypanosomiasis, but the results obtained do not seem to be always constant and accurate. Some techniques of experimental cyclical transmission to be set up according to well defined procedure would probably be capable of removing such uncertainty.

According to the results, he has obtained in the cyclical transmission of *T. congolense* and the experiments made by other workers, the author proposes to set up the methods for efficiently ensuring cyclical transmission.

The use of self-supporting colonies is the primary requisite for the cyclical transmission of the trypanosomes belonging to *brucei* and *congolense* groups and which calls for recently emerged tsetse that are at their first meal.

In order to ensure an efficient cyclical transmission, it is possible either to adjust the frequency of trials according to the number of available tsetse flies or to determine the size of the self-supporting colony according to the number of flies necessary for one transmission. This number may be determined either from the results obtained in previous trials or from the rate of salivary infection to be expected according to the species of the infecting host and the transmissivity of the strain used.

The author has chosen the indications which are generally the most useful in the experimental transmission through those three stages: fly infection, fly maintenance and animal infection.

The choice of the infecting host seems to play the main part at the first stage, but the nature of certain strains should also be considered, because they may lose the whole or a part of their suitability for cyclical transmission.

The fly infection does not necessarily occur in the case of acute parasitaemia and has perhaps no connection, as regards the infecting host, with the predominancy of certain forms of the parasite, but on the other hand it seems to be favoured by the choice of certain periods in the course of parasitaemic risings.

The trials made by the author did not show up any influence of the fly sex on the development of trypanosomes.

The fly maintenance is made on an intermediate host preferably chosen from among hosts suitable for the trypanosome evolution, but the unfavourable influences seem to depend on the species rather on the individual. The efficiency of the various methods of maintenance is evaluated by the survival rates of experiment flies.

The animal infection depends on several factors: receptivity of the species, transmissivity and pathogenicity of the strain used, conditions of the meal taken by the fly on the receiving animal.

The infection is finally controlled both on the receiving animal and the vector insect, by showing the relationship with each other, the result may lead to improving conditions.

The author makes then a survey of two recent techniques which are able to promote laboratory research on cyclical transmission: freezing trypanosomes at low temperatures and feeding tsetse through membranes upon blood meals.

RESUMEN

Trasmisión cíclica experimental de ciertos tripanosomas patógenos africanos

Se realizó la trasmisión de una cepa de *T. congolense* en laboratorio, durante dos años y media sea por vía directa sea por vía cíclica, después durante seis meses únicamente por vía cíclica.

Los resultados obtenidos y las experiencias de otros investigadores permiten determinar las mejores condiciones para realizar eficazmente en laboratorio transmisiones cíclicas pudiendo ser utilizadas para las búsquedas sobre ciertas tripanosomiasis patógenas africanas y pudiendo dar indicaciones útiles en el campo de la epidemiología y de la inmunología.

El autor presenta y discute las varias técnicas que se necesitan utilizar durante las tres fases: infección y mantenimiento de la mosca, infección del animal.

Expone dos nuevas técnicas interesantes para las búsquedas utilizando la trasmisión cíclica: la congelación de los tripanosomas y la alimentación de las moscas tse-tse a través de membrana sobre medios sanguíneos.

BIBLIOGRAPHIE

- BOYLE (J. A.). Effect of blood intake of *Glossina austeni* Newst. on pupal weights in successive reproductive cycles. *Bull. ent. Res.*, 1971, **61** (1): 1-5.
- BROOM (J. C.) et BROWN (H. C.). Studies in trypanosomiasis. IV: Notes on the serological characters of *Trypanosoma brucei* after cyclical development in *Glossina morsitans*. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1940, **34**: 53-64.
- CLARKE (J. E.). Trypanosome infections in the mouthparts of *Glossina morsitans* Westw. variations in frequency and extent of labral infection with age. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1966, **60** (2): 223-229.
- DUKE (H. L.). Studies on the factors that may influence the transmission of the polymorphic trypanosomes by the tsetse. IV: On the spontaneous disappearance of flagellates from an infected glossina. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1933 a, **27**: 431-438.
- DUKE (H. L.). Studies on the factors that may influence the transmission of the polymorphic trypanosomes by the tsetse. VII: *T. rhodesiense* versus *T. gambiense*. A comparison of their power to develop cyclically in glossina. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1933 b, **27**: 569-584.
- DUXBURY (R. E.) et SADUN (E. H.). Resistance produced in mice and rats with irradiated *Trypanosoma rhodesiense*. *J. Parasit.*, 1969, **54** (4): 859-865.
- FAIRBAIRN (H.) et BURTT (E.). The infectivity to man of a strain of *Trypanosoma rhodesiense* transmitted cyclically by *Glossina morsitans* through sheep and antelope: evidence that man requires a minimum infective dose of metacyclic trypanosomes. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1946, **40** (3-4): 270-313.
- FREZIL (J. L.). Application du xénodagnostic dans le dépistage de la trypanosomiase à *T. gambiense* chez des sujets immunologiquement suspects. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1971, **64**: 871-878.
- GARNHAM (P. C. C.), PIERCE (A. E.) et ROITT (I.). A symposium of the British Society for immunology, Oxford, Blackwell Scientific Publ., 1963, pp. 11-12.
- GORDON (R. M.) et MILLER (J. K.). Cyclical infection of *Glossina morsitans* with culture forms of *Trypanosoma rhodesiense*. *Nature*, 1961, **191**: 1317.
- GRAY (A. R.). Antigenic variation in a fly-transmitted strain of *Trypanosoma brucei*, I.S.C.T.R., 9th Meeting, Conakry, 1962, C.C.T.A. Publ., **88**: 361-368.
- GRAY (A. R.). Antigenic variation in a strain of *Trypanosoma brucei* transmitted by *Glossina morsitans* and *G. palpalis*. *J. Gen. Microbiol.*, 1965, **41**: 195-214.
- GRAY (A. R.). Some principles of the immunology of trypanosomiasis. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 1967, **37**: 177-193.

14. GRAY (A. R.). The epidemiological significance of some recent findings from research on antigenic variation in trypanosomiasis. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 1969, **41**: 805-813.
15. HARLEY (J. M. B.), CUNNINGHAM (M. P.) et VAN HOEVE (K.). The number of infective *Trypanosoma rhodesiense* extruded by *Glossina morsitans* during feeding. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1966, **60**: 455-460.
16. LAMBRECHT (F. L.). Ecological and physiological implication in the selection of trypanosome strains during cyclic transmission. *J. trop. Med. Hyg.*, 1969, **72**: 203-209.
17. LANGERON (M.). Précis de microscopie. Sixième éd., Paris, Masson, 1942.
18. LUMSDEN (W. H. R.). Trends in research on the immunology of trypanosomiasis. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 1967, **37**: 167-175.
19. LUMSDEN (W. H. R.), CUNNINGHAM (M. P.), WEBBER (W. A. F.) et Collab. A method for the measurement of the infectivity of trypanosome suspensions. *Exp. Parasit.*, 1963, **14**: 269-279.
20. MAILLOT (L.). Essais de transmission cyclique de trypanosomes du groupe *congolense*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1970, **23** (2): 189-193.
21. MAILLOT (L.). Essais de transmission cyclique de trypanosomes du groupe *congolense*. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 2^e note, 1972, **25** (4): 539-541.
22. MAILLOT (L.). Possibilité d'un « xénodiagnostic » dans la maladie du sommeil. *Bull. Soc. Pat. exot.*, 1973, **66** (2): 291-296.
23. NASH (T. A. M.), JORDAN (A. M.) et BOYLE (J. A.). The large scale rearing of *Glossina austeni* Newst. in the laboratory. IV: The final technique. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1968, **62**: 336-341.
24. Nigerian Institute for Trypanosomiasis Research (N.I.T.R.), Annual Report, 1966.
25. ROUBAUD (E.) et MAILLOT (L.). Les modalités de l'infection cyclique trypanosomienne observées chez les *Glossina caliginea* des gîtes à palétuviers de Douala. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1952, **45**: 228-235.
26. ROUBAUD (E.) et PROVOST (T. A.). Infection inapparente de la poule par *Trypanosoma rhodesiense*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1939, **32**: 807-808.
27. SOUTHON (H.A.W.) et CUNNINGHAM (M.R.). Infectivity derived from individual *Glossina morsitans* West. *Nature*, 1966, **212**: 1477-1478.
28. WILLETT (K. C.). Studies on the deposition and development to the blood forms of trypanosomes belonging to the *Trypanosoma brucei* group. II: An account of the migration of the trypanosomes from the site of their deposition in the rodent host to their appearance in the general circulation, with some observations on their probable route of migration in the human host. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1957, **51**: 471-472.
29. WILSON (A. J.), CUNNINGHAM (M. P.) et HARLEY (J. M. B.). Numbers of infective metacyclic trypanosomes of the *Trypanosoma congolense* group ejected by *Glossina morsitans* during feeding. I.S.C.T.R., 11th Meeting, Nairobi, 1966, C.C.T.A., **100**, 41-44.