

Variants antigéniques détectés après transmission cyclique d'un clone de Trypanosoma brucei brucei chez des bovins trypanosensibles et résistants

par G. DUVALLET

Centre de Recherches sur les Trypanosomoses Animales (C.R.T.A.)
B.P. 454, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

Résumé

DUVALLET (G.). Variants antigéniques détectés après transmission cyclique d'un clone de Trypanosoma brucei brucei chez des bovins trypanosensibles et résistants. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1984, 37 (N° spécial) : 277-287

Les répertoires antigéniques exprimés chez deux bovins trypanosensibles et deux trypanorésistants après infection cyclique par un clone du répertoire DiTaR 1 sont semblables. Les variants antigéniques prédominants observés ici sont les mêmes que ceux observés précédemment après infection à la seringue. La trypanosensibilité des bovins ne semble donc pas dépendre d'une expression différentielle des types antigéniques chez les divers hôtes.

Mots-clés : Variants antigéniques - Trypanosoma brucei brucei - Bovins.

Summary

DUVALLET (G.). Antigenic types detected after the cyclical transmission of a Trypanosoma brucei brucei clone in trypanosensitive and resistant cattle. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1984, 37 (N° spécial) : 277-287

Antigenic repertoires expressed in two trypanosensitive and two resistant bovines after cyclical transmission with a DiTaR 1 clone are similar. Predominant antigenic types observed in this experiment are the same than those previously observed after syringe infection. Bovine trypanosensitivity does not seem to depend on differential expression of antigenic types in different hosts.

Key words : Antigenic types - Trypanosoma brucei brucei - Cattle.

INTRODUCTION

Les trypanosomes sont, en Afrique, les agents pathogènes de la maladie du sommeil chez l'homme et des trypanosomoses chez les animaux domestiques ou sauvages.

Les formes sanguicoles de ces parasites sont recouvertes d'un manteau antigénique très dense constitué d'une unique glycoprotéine d'un poids moléculaire d'environ 60 000 daltons. Cette glycoprotéine constitue l'antigène le plus important dans la protection immunologique contre les trypanosomes. Les anticorps protecteurs produits par l'hôte sont, en effet, dirigés contre cette glycoprotéine. Or, grâce au phénomène de variation antigénique, le trypanosome a la faculté de modifier cette glycoprotéine de surface, dite variable, et d'échapper ainsi aux défenses immunes de l'hôte (4, 13, 17).

La technique du clonage des trypanosomes, décrite dès 1913 par OEHLER (8), permet de travailler avec des populations homogènes, dérivant d'un seul génome. La plus grande collection connue de types antigéniques variables (TAV) a été décrite pour un clone de Trypanosoma equiperdum et comprend 101 TAVs (2). Le nombre de TAVs pour un clone, ou répertoire, est probablement de plusieurs centaines à plusieurs milliers.

Des répertoires antigéniques ont déjà été décrits pour T. brucei brucei (4, 6, 15, 16, 17), T. b. gambiense (18), T. b. rhodesiense (1, 18), T. evansi (18), T. equiperdum (2, 18), T. congolense (9, 14) et T. vivax (3).

A l'occasion d'un travail précédent (11) sur la comparaison des répertoires exprimés par un clone chez des bovins trypanosensibles et trypanorésistants, nous avons isolé et caractérisé un nouveau répertoire de T. brucei brucei. Ce répertoire est dénommé DiTaR 1 pour Bobo- Dioulasso Trypanozoon antigenic Repertoire 1.

L'infection des bovins avait été réalisée par injection à la seringue du clone T45 R3/02.04.81 exprimant le type antigénique DiTat 1.1.

Nous avons repris ce travail en infectant les bovins par piqûre de Glossina palpalis gambiensis préalablement infectées par un clone du répertoire. Ce sont les résultats de cette transmission cyclique qui est rapportée ici.

MATERIEL ET METHODES

Bovins

Trois taurins Baoulé mâles (405, 406, 526) et 1 Zébu mâle (615) ont été infectés dans cette expérience. Les taurins 405 et 406, âgés de 4, 5 ans, étaient

considérés comme trypanorésistants (12). Le taurin 526 et le Zébu 615, âgés de 3 ans, étaient considérés comme trypanosensibles selon les mêmes critères.

Pour tester leur trypano-sensibilité, ces 4 bovins avaient été placés un an auparavant dans une zone à forte densité de glossines (ferme de Samandeni ou zone de Karankasso). Tous ont donc été en contact avec les trypanosomes. Après traitement au Bérénil^R, ils furent placés dans une zone exempte de glossines (Sarfalao) et furent suivis régulièrement (parasitémie, hématocrite, anticorps anti-trypanosomes par immunofluorescence indirecte (IFI)) pendant 9 mois avant d'être utilisés dans cette expérience.

Avant le début de celle-ci, la recherche d'anticorps contre les antigènes communs de T. brucei brucei, T. congolense et T. vivax par IFI s'est révélée négative pour les animaux 405, 526 et 615. Seul le 406 présentait un titre significativement positif sur T. vivax sans que le parasite puisse être mis en évidence. Mais aucun animal ne présentait d'anticorps spécifiques, révélés par agglutination, contre un clone quelconque du répertoire DiTaR 1.

Glossines

Cent femelles Glossina palpalis gambiensis, fournies par la section "Glossines" du C.R.T.A., ont été utilisées. Elles prirent leur premier repas de sang, moins de 12 heures après émergence, sur un lapin infecté, 18 jours au préalable, par le clone T45 R46 de la souche Farakoba/80/CRTA/1 de T. b. brucei. Elles prirent leurs repas suivants sur un lapin sain.

La recherche de l'infection des glossines a été réalisée par examen microscopique de gouttes de salive dégorgees sur lames chauffées à 37° et confirmation par l'observation d'une parasitémie positive chez des souris à la suite d'un repas de sang. Les mouches infectées ont été utilisées, pour l'infection des bovins, 43 jours après leur repas infectant sur lapin.

Trypanosomes

Le clone T45 R46 de T. b. brucei, utilisé pour infecter un lapin et les glossines, est un élément du répertoire DiTaR 1 et exprime le type antigénique DiTat 1.13.

Tous les clones appartenant au répertoire DiTaR 1 et exprimant les types antigéniques DiTat 1.1 à 1.13 (11) sont conservés en azote liquide.

Les antigènes pour le test d'agglutination sont obtenus en décongelant les stabilats et en les inoculant, pour amplification, à des souris irradiées (650 rd¹³⁷Cs 0,8 krd. mn). Trois jours après, les souris sont saignées et le sang passé sur une

colonne de DEAE-cellulose (7). Une suspension homogène de trypanosomes d'un type antigénique donné est ainsi obtenue.

Schéma expérimental

Les taurins 406, 526 et 405 ont été infectés, dans cet ordre, à deux jours d'intervalle, par les mêmes glossines (n° 9, 14, 15 et 17), dont l'infection avait été confirmée. Chacun de ces bovins a donc reçu 4 piqûres infectantes, le Zébu 615 a été infecté, 2 jours après le 405, avec 6 mouches infectées (n° 10, 12, 14, 15, 17 et 18).

Après infection, les animaux ont été suivis quotidiennement - jours fériés exceptés - jusqu'au jour 70 (j 70), puis tous les deux jours de j 71 à j 209, puis 1 fois par semaine de j 210 à la fin de l'observation. Celle-ci correspond respectivement aux jours 291, 295, 293 et 289 pour les animaux 405, 406, 526 et 615.

Pour chaque examen, un prélèvement de 5 ml de sang sur anticoagulant était fait à la jugulaire. L'hématocrite était mesuré et la parasitémie observée in situ après centrifugation en tube capillaire, au niveau de l'interface plasma/leucocytes (19). Le plasma était conservé pour l'étude des anticorps spécifiques de variants.

Agglutination

Le test d'agglutination, utilisé pour la détection des anticorps spécifiques de variants, réalisé en plaques à microtitration, a déjà été décrit (10). Les sérums ont été testés avant et après traitement au mercaptoéthanol (0,2 M, 3 heures à 37°C juste avant titration).

RESULTATS

Réactions cutanées

L'observation des sites de piqure des glossines infectées a donné les résultats suivants :

- Zébu 615 et Baoulé 526 : aucune réaction ;
- Baoulé 405 : réaction cutanée de type inflammatoire sur 2 sites de piqûre (glossines n° 15 et 17) apparaissant à j 8, très nette à j 9 et disparaissant ensuite en quelques jours ;
- Baoulé 406 : réaction de même type apparaissant à j 11 sur un seul site (glossine n° 9), nette à j 13 et disparaissant ensuite.

Parasitémie des bovins

La période prépatente observée a été de 6 jours pour les animaux 405, 526 et 615 et de 7 jours pour le 406.

La répartition des parasitémies positives sur l'ensemble de la période d'observation a donné les résultats regroupés dans le tableau n° I.

La dernière parasitémie positive observée correspond aux jours 172, 176, 198 et 163 respectivement pour les animaux 405, 406, 526 et 615.

TABLEAU N° I-Répartition des parasitémies positives observées sur l'ensemble des examens réalisés

Animaux		405	406	526	615
J 0	Nombre total d'examens	39	39	38	39
	à Examens +	32	34	26	32
J 50	p.100	82	87	68	82
J 51	Nombre total d'examens	75	77	76	72
	à Examens +	16	17	3	16
fin	p.100	21	22	4	22

Hématocrite

Au cours de cette expérimentation, les hématocrites n'ont montré aucune tendance à la baisse.

L'analyse statistique des valeurs mesurées a donné les résultats suivants (moyenne arithmétique \pm 2 écarts-types) :

- . animal 405 : 90 valeurs, hématocrite = 38 ± 5
- . animal 406 : 96 valeurs, hématocrite = 30 ± 4
- . animal 526 : 90 valeurs, hématocrite = 33 ± 5
- . animal 615 : 89 valeurs, hématocrite = 31 ± 5

Réponse immunitaire spécifique

Parmi les plasmas prélevés jusqu'au jour 70, 14 pour chaque animal, espacés en moyenne de 5 jours, ont été testés en agglutination vis-à-vis de 13 clones du

répertoire DiTaR 1 exprimant les variants DiTat 1.1 à DiTat 1.13 (11).

Le tableau n° II indique, pour chaque animal et chaque variant, la première semaine de détection des anticorps spécifiques.

TABLEAU N° II-Détection des anticorps variants-spécifiques par agglutination.
Semaine d'apparition après l'infection cyclique

DiTat 1.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Bovins													
405	2*	3	7	7	5	>10	7	-	3	5	2	3	2
406	2	4	5	5	7	6	6	-	3	6	2	>10	2
526	3	3	8	7	7	10	7	-	3	7	3	>10	3
615	3	6	6	6	5	>10	6	-	3	8	3	6	3

* détection au cours de la 2^e semaine après l'infection ; - autoagglutination avec cet antigène.

Le tableau n° III indique la hauteur (titre en log₃) et la date du pic des anticorps variants spécifiques.

TABLEAU N° III-Hauteur (titre en log₃) et date (jours post-infection)
du pic des anticorps spécifiques en agglutination

DiTat 1.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
405													
Hauteur	5	4	2	2	2	-	2	-	4	2	5	3	6
Date J	16	44	44	44	30	-	44		25	30	16	25	16
406													
Hauteur	5	4	3	3	2	2	2	-	5	2	6	4	5
Date J	15	41	41	41	48	41	41		25	41	15	74	15
526													
Hauteur	3	2	3	2	2	2	2	-	3	2	3	1	3
Date J	25	16	51	51	46	66	46		46	72	25	66	25
615													
Hauteur	4	3	3	4	3	1	2	-	4	2	2	2	2
Date J	16	42	68	47	56	56	42		21	56	21	42	21

Après traitement au mercaptoéthanol, les plasmas ont été testés en agglutination vis-à-vis de 4 clones exprimant les variants DiTat 1.1, 1.2, 1.11 et 1.13. Les réponses ont été fortement diminuées pour les taurins 405, 406 et 526 et totalement annulées pour le Zébu 615.

La figure n° 1 montre, pour chaque animal, la séquence d'apparition des anticorps agglutinants spécifiques de chaque variant. L'autoagglutination du variant 8 ne nous a pas permis de tracer la courbe correspondante.

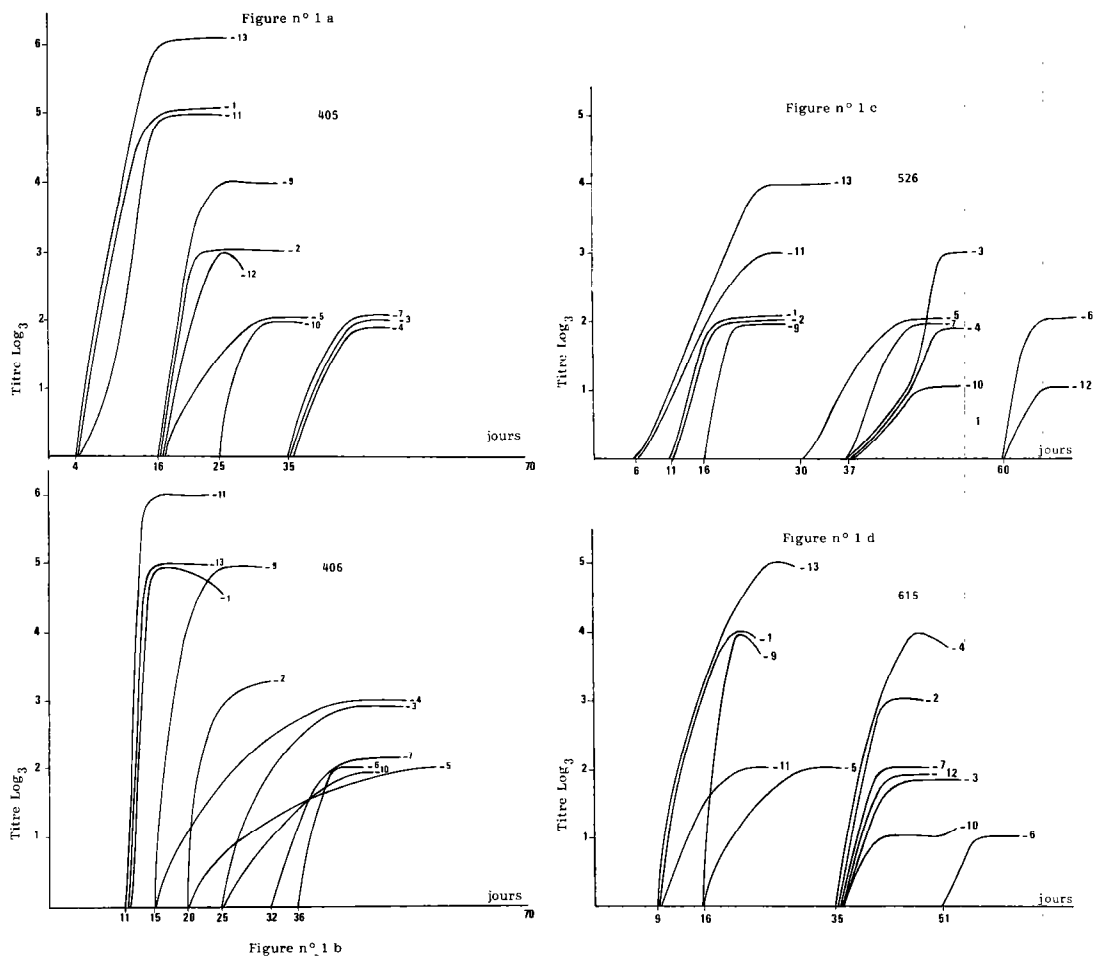


Figure n° 1. Séquence d'apparition des anticorps agglutinants spécifiques des variants DiTaT 1.1 à 1.13. (a, 405 ; b, 406 ; c, 526 ; d, 615).

DISCUSSION

Quatre bovins dont 3 taurins Baoulé (n° 405, 406 et 526) et 1 Zébu (n° 615) ont été infectés cycliquement par piqûre de *G. palpalis gambiensis* infectées par un clone du répertoire DiTaR 1. Les animaux 405 et 406 étaient reconnus trypanorésistants et les animaux 526 et 615 trypanosensibles (12).

Quatre piqûres infectantes de glossine ont suffi à induire une parasitémie patente en 6 jours. Les réactions cutanées au niveau des sites de piqûre des glossines ont été fugaces, inconstantes et sont apparues après la patence des parasitémies. Les 3 réactions inflammatoires observées l'ont été chez les 2 animaux

trypanorésistants. Il est cependant difficile d'assimiler ces réactions aux chancres classiquement décrits (5).

Pour les animaux 405, 406 et 615, plus de 80 p.100 des examens parasitologiques réalisés ont été positifs entre j 0 et j 50. Si l'on élimine la période prépatente, ce sont 100 p.100 des examens qui s'avèrent positifs pendant cette période. Pour le 526, 68 p.100 seulement des examens étaient positifs et 79 p.100 si l'on soustrait la période prépatente. Après le jour 50, les parasitémies positives sont de plus en plus espacées ; 21 à 22 p.100 des examens sont positifs pour les animaux 405, 406 et 615, 4 p.100 seulement le sont pour le 526. Sur le plan des parasitémies positives, le Zébu s'est comporté comme les 2 Baoulé résistants alors que le Baoulé 526, classé trypanosensible, a montré beaucoup moins de parasites. Avant la fin de l'expérience, les périodes aparasitémiques ont été de 119, 119,95 et 126 jours respectivement pour les animaux 405, 406, 526 et 615. Peut-on parler de guérison spontanée ? Il semble plutôt qu'il s'agisse d'un équilibre entre l'hôte et les parasites. Ceux-ci évoluent à bas bruit et ne deviennent patents qu'à l'occasion d'un stress de l'animal (transport, maladie intercurrente, etc.).

Contrairement à ce que nous observons pour les infections à T. congolense et T. vivax, l'infection à T. brucei brucei n'entraîne pas chez le bovin une chute de l'hématocrite.

Les mêmes observations concernant la parasitémie et l'évolution de l'hématocrite avaient été faites après infection à la seringue (11).

Concernant la réponse immune spécifique contre les différents variants du répertoire, nous observons que les clones exprimant les types antigéniques DiTat 1.1, 1.11 et 1.13 s'expriment les premiers (tableau n° II) et que la réponse en agglutination contre eux est la plus élevée (tableau n° III). Les variants DiTat 1.2 et 1.9 s'expriment ensuite, puis les autres variants. Le variant DiTat 1.6 est un des plus tardifs. Les clones exprimant le type DiTat 1.8 ont toujours montré une nette tendance à l'auto-agglutination, empêchant toute interprétation de la réaction.

Tous les variants se sont donc exprimés chez les 4 animaux infectés et l'ordre d'apparition, observé par la cinétique des anticorps agglutinants, est sensiblement le même. De plus, cet ordre est semblable à ce que nous avons observé après infection à la seringue (11).

Les titres obtenus en agglutination sont plus élevés pour les variants précoces qui sont aussi les plus virulents pour la souris (11) ; les titres obtenus vont en décroissant avec les variants tardifs.

De même les titres obtenus contre les variants dominants (DiTat 1.1, 1.11, 1.13, 2, 9) sont plus élevés chez les animaux 405 et 406 que chez les animaux 526 et

615 (tableau n° III). Les 2 animaux trypanorésistants montrent ainsi une meilleure réponse immunitaire, au moins contre les variants précoces. Cette observation doit être confirmée sur un plus grand nombre d'animaux et étendue aux parasites plus pathogènes pour le bétail : T. congolense et T. vivax.

CONCLUSION

Pour Trypanosoma vivax, DE GEE *et al.* (3) ont montré qu'un même clone pouvait exprimer, suivant les hôtes, des répertoires différents.

Pour le répertoire DiTaR 1 de T. b. brucei, nous avons montré, après infection à la seringue (11) ou transmission cyclique, que le même répertoire antigénique s'exprimait chez des bovins trypanosensibles ou trypanorésistants. Ce sont les mêmes variants prédominants qui s'expriment au début de l'infection.

De plus, nous avons infecté cycliquement des souris avec les mêmes glossines que celles utilisées pour les bovins (résultats non publiés) et nous avons observé dans les deux premiers pics de parasitémie les mêmes variants dominants. Il semble donc, dans notre modèle, que le répertoire exprimé soit indépendant de l'hôte et dépende uniquement du sérodème utilisé. L'hypothèse selon laquelle des variants plus virulents s'exprimeraient préférentiellement chez les bovins trypanosensibles et inversement n'est pas vérifiée ici. Ce résultat doit être confirmé sur un plus grand nombre d'animaux et en utilisant un parasite plus pathogène pour le bétail domestique comme T. congolense.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. SOMDA Bernadin pour son aide technique au laboratoire et M. ROELANTS G.E.R. pour les corrections apportées au texte.

Ce travail est financé conjointement par l'Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, Maisons-Alfort, France et la Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, PN 77.2227.5, République Fédérale d'Allemagne.

Resumen

DUVALLET (G.). Variantes antigenicas descubiertas después de transmisión cíclica de clones de Trypanosoma brucei brucei en bovinos tripanosensibles y resistentes. Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1984, 37 (N° spécial) : 277-287

Los repertorios antigenicos encontrados en dos bovinos tripanosensibles y dos tripanoresistentes después de una infección cíclica por un clones del repertorio

DiTaR 1 son semejantes. Los variantes antigenicos predominantes observados son los mismos que los observados anteriormente después de una infección con jeringuilla. Así, la tripanosensibilidad de los bovinos no parece depender de una expresión diferencial de los tipos antigenicos en los varios huéspedes.

Palabras claves : Variantes antigenicos - Trypanosoma brucei brucei - Bovinos.

Bibliographie

1. CAMPBELL (G.H.), ESSER (K.M.), WELLDE (B.T.), DIGGS (C.L.). Isolation and characterization of a new serodeme of Trypanosoma rhodesiense. Am. J. trop. Med. Hyg., 1979, 28 : 974-983.
2. CAPBERN (A.), GIROUD (C.), BALTZ (T.), MATTERN (P.). Trypanosoma equiperdum : étude des variations antigéniques au cours de la trypanosomose expérimentale du lapin. Expl. Parasit., 1977, 42 : 6-13.
3. DE GEE (A.L.W.), SHAH (S.D.), DOYLE (J.J.). Trypanosoma vivax : sequence of antigenic variants in mice and goats. Expl. Parasit., 1979, 48 : 352-358.
4. DOYLE (J.J.). Antigenic variation in the salivarian trypanosomes. Adv. expl. Med. Biol., 1977, 93 : 31-63.
5. EMERY (D.L.), AKOL (G.W.O.), MURRAY (M.), MORRISON (W.I.), MOLOO (S.K.). The chancre-early events in the pathogenesis of african trypanosomiasis in domestic livestock. In : Van den BOSSCHE (H.), ed. The host invader interplay. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1980.
6. GRAY (A.R.). Antigenic variation in clones of Trypanosoma brucei. I. Immunological relationship of the clones. Ann. trop. Med. Parasit., 1965, 59 : 27-36.
7. LANHAM (S.M.), GODFREY (D.G.). Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose. Expl. Parasit., 1970, 28 : 521-534.
8. OEHLER (R.). Pure trypanosome strains obtained by transmission of single trypanosomes. Trop. Dis. Bull., 1913, 1 : 525-526.
9. ONODERA (M.), ROSEN (N.L.), LIFTER (J.), HOTEZ (P.J.), BOGUCKI (M.S.), DAVIS (G.), PATTON (C.L.), KONIGSBERG (W.H.), RICHARDS (F.F.). Trypanosoma congolense : Surface glycoprotein of two early bloodstream variants. II. Purification and partial chemical characterization. Expl. Parasit., 1981, 52 : 427-439.

10. PINDER (M.), LIBEAU (G.), HIRSCH (W.), TAMBOURA (I.), HAUCK-BAUER (R.), ROELANTS (G.E.). Anti-trypanosome specific immune responses in bovines of differing susceptibility to african trypanosomiasis. Immunology, 1984, 51 : 247-258.
11. ROELANTS (G.E.), DUVALLET (G.), HIRSCH (W.), KANWE (B.), PINDER (M.), GUIDOT (G.), LIBEAU (G.), VAN MELICK (A.). Trypanosoma brucei brucei : analysis of relapsing populations in sensitive and resistant breeds of cattle. (soumis).
12. ROELANTS (G.E.), TAMBOURA (I.), SIDIKI (D.B.), BASSINGA (A.), PINDER (M.). Trypanotolerance. An individual not a breed character. Acta Trop., 1983, 40 : 99-104.
13. ROELANTS (G.E.), WILLIAMS (R.O.). African trypanosomiasis. Critic. Reviews trop. Med., 1982, 1 : 31-75.
14. ROSEN (N.L.), ONODERA (M.), HOTEZ (P.J.), BOGUCKI (M.S.), ELCE (B.), PATTON (C.), KONIGSBERG (W.H.), CROSS (G.A.M.), RICHARDS (F.F.). Trypanosoma congolense : Surface glycoprotein of two early bloodstream variants. I. Production of a relapsing infection in rodents. Expl. Parasit., 1981, 52 : 210-218.
15. SONGA (E.B.), VAN MEIRVENNE (N.), MURRAY (M.). Caractérisation du répertoire antigénique AnTAR 5 de Trypanosoma brucei brucei. Annls Soc. belge Méd. trop., 1984, 63 : 205-217.
16. SONGA (E.B.), VAN MEIRVENNE (N.), MURRAY (M.). Caractérisation du répertoire antigénique AnTAR 2 de Trypanosoma brucei brucei. Annls Soc. belge Méd. trop., 1984, 64 : 13-20.
17. TURNER (M.J.). Biochemistry of the variant surface glycoprotein of salivarian trypanosomes. Adv. Parasit., 1982, 21 : 69-153.
18. VAN MEIRVENNE (N.), MAGNUS (E.), VERVOORT (T.). Comparisons of variable antigenic types produced by trypanosome strains of the subgenus Trypanozoon. Annls Soc. belge Méd. trop., 1977, 57 : 409-425.
19. WOO (P.T.K.). The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of african trypanosomiasis. Acta Trop., 1970, 27 : 384-386.