

Communications

and reproductive capacity. Both infections showed acute to chronic courses. *T. b. brucei* appeared more virulent than *T. congolense*. In both cases the infection periods significantly ($P < 0.01$) influenced resultant decrease in body and gonadal weight, testicular mass index and extent of lesion formation. Histopathological lesions included mononuclear infiltration, distortion of seminiferous tubules and degeneration of germ cells. Both trypanosomes impaired reproductive capacity through impaired hormone biosynthesis, sperm production and reserves. Use of guinea-pigs as a laboratory model for the study of trypanosomiasis in domestic animals is discussed. *Key words* : Guinea-pig - Trypanosomiasis - *Trypanosoma brucei brucei* - *Trypanosoma congolense* - Genital system - Lesion - Reproduction - Histopathology - Nigeria.

References

1. AGU (W.E.), BAJEH (Z.T.). Studies on experimental infection of pigs with *Trypanosoma brucei*. *Acta trop.*, 1987, **44** (3) : 371-375.
2. AMANN (R.P.). Reproductive capacity of dairy bulls. IV. Spermatogenesis and testicular germ cell degeneration. *Am. J. Anat.*, 1962, **110** : 69-78.
3. ASHMAN (P.U.), SEED (J.B.). The effects of photoperiod and *Trypanosoma brucei gambiense* infection on the reproductive organs of male *Microtus montanus*. *J. Reprod. Fert.*, suppl 27, 1974 : 19-23.
4. GILMORE (D.P.). Seasonal reproductive periodicity in the male Australian brush-tailed possum (*Trichosurus vulpecula*). *J. Zool.*, London, 1969, **157** : 75-78.
5. HERBERT (W.T.), LUMSDEN (W.H.H.). A rapid matching method for establishing the host's parasitaemia. *Exp. Parasitol.*, 1987, **40** : 137-141.
6. IGBOELI (J.), RAHKA (A.M.). Gonadal and extragonadal sperm reserves of indigenous Central African bulls. *J. Reprod. Fert.*, 1971, **25** : 107-109.
7. IKEDE (B.O.), AKPAVIE (S.O.). Delay in resolution of trypanosome-induced genital lesions in male rabbits infected with *Trypanosoma brucei* and treated with Diminazene aceturate. *Res. Vet. Sci.*, 1982, **32** : 374-376.
8. IKEDE (B.O.), ELHASSAN (E.), AKPAVIE (S.O.). Reproductive disorders in African trypanosomiasis : a review. *Acta trop.*, 1988, **45** : 5-10.
9. ILEMOBADE (A.A.), BALOGUN (T.F.). Pig trypanosomiasis : effect of the infection on feed intake, live weight gain, and carcass traits. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, 1981, **13** (3) : 128-136.
10. MONZON (C.M.), VILLAVICENCIO (V.I.). Serum proteins in Guinea-pigs and horses infected with *Trypanosoma evansi*. *Vet. Parasitol.*, 1990, **36** (3-4) : 295-301.
11. MUTAYOBA (B.M.). Susceptibility of the East African breed of goats from different localities to *Trypanosoma congolense* with emphasis on residual fertility in trypanotolerant East African goats. Thesis, University of Nairobi, Kenya, 1986.
12. MUTAYOBA (B.M.), GOMBE (S.), KAAYA (G.P.), WAINDI (E.N.). Effect of chronic experimental *Trypanosoma congolense* infection on the ovaries, pituitary, thyroid and adrenal glands. *Res. Vet. Sci.*, 1988, **44** : 140-146.
13. OLIVEIRA DE (T.C.G.), SOGAYAR (R.), SALATA (E.). Studies on serological diagnosis of experimental infection with *Trypanosoma evansi* in guinea-pigs. *Revta Inst. Med. trop. Sao Paulo*, 1989, **31** (2) : 95-99.
14. ONUORA (G.I.), OMEKE (B.C.O.). Effect of age at hemicastration on the body and testis weight of piglets. *Anim. Reprod. Sci.*, 1988, **18** : 106-110.
15. RISBRIDER (G.P.), KERR (J.B.), KRETSEK (D.M.). Evaluation of Leydig cell function and gonadotrophin binding in unilateral cryptorchidism : evidence of local control of Leydig cell function by seminiferous tubule. *Biol. Reprod.*, 1981, **24** : 534-540.
16. ROBERTSON (J.S.), HUBARD-OCARIZ (J.L.), WILSON (J.C.), PAYER (H.). Gonadectomy in intensive beef production. In : RHODES (D.N.). Meat production from entire male animals. Churchill, London, 1969. P. 79-90.
17. SEKONI (V.O.), KUMI-DIAKO (J.), SARROR (D.I.), UGWU (C.O.). Comparative pathology of male bovine genitalia following *Trypanosoma vivax* and *T. congolense* infection. 5th Annual Conf. Nig. Soc. Reprod., Ibadan, Oct. 6-8, 1988.
18. STEPHEN (L.E.). Clinical manifestation of trypanosomiasis in live-stock and other domestic animals. In : African trypanosomiasis, 1st ed. London, George Allen and Unwin Ed., 1970. P. 772-774.

Détermination de l'activité protéase sur une souche cubaine de *Babesia bovis*L.C. Savon¹M. Alonso¹J. Rodriguez-Diego¹T. Blandino¹

SAVON (L.C.), ALONSO (M.), RODRIGUEZ-DIEGO (J.), BLANDINO (T.). Détermination de l'activité protéase sur une souche cubaine de *Babesia bovis*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1992, **45** (1) : 30-31

L'atténuation d'une souche de *Babesia bovis* est liée à son contenu en protéases. Le présent travail évalue ce paramètre sur une souche virulente, avant et après atténuation par passages rapides sur des veaux splénectomisés. L'activité protéase à différents pH a été déterminée sur des fractions protéiques provenant de sang de veaux. Le test enzymatique a montré des différences marquées du contenu en protéases des deux lignées. *Mots clés* : *Babesia bovis* - Souche cubaine - Protéase - Atténuation - Vaccin - Cuba.

Introduction

Dans de nombreux pays, la babésiose est contrôlée avec des vaccins atténués.

Les modes d'atténuation les plus utilisés consistent, soit en passages rapides sur veaux splénectomisés (3,4), soit en irradiation avec du Co60 (8).

WRIGHT (5) et WRIGHT *et al.* (7) ont montré que ces deux méthodes diminuent ou éliminent l'activité protéase du parasite.

ALONSO *et al.* (1) ont atténué une souche cubaine de *Babesia bovis* pour obtenir un vaccin.

L'objectif du présent travail est de déterminer l'activité protéase de la souche vaccinale après atténuation, et de la comparer à la souche virulente originelle, afin de pouvoir contrôler *in vitro* l'atténuation du parasite.

Matériel et méthode

Le sang provenait d'un bovin d'un an inoculé avec la souche de *Babesia bovis* supposée atténuée par la méthode de CALLOW *et al.* (3) et d'un autre veau inoculé avec la souche virulente originelle. Le sang a été prélevé lorsque la parasitémie a dépassé 6 p. 100 ; dans les deux cas, il a été lavé avec du PBS jusqu'à obtenir les culots globulaires, congelés et décongelés trois fois en azote liquide.

1. Departamento de Parasitología, CENSA, Apto 10, San-José de Las Lajas, La Habana, Cuba.

Reçu le 24.3.1992, accepté le 1.4.1992.

Ensuite, les globules rouges ont été centrifugés à 3 000 t/min et le culot soniqué au maximum puis centrifugé à 9 600 t/min ; le surnageant a été passé sur une colonne de CM Sephadex C-50. Les fractions les plus riches en protéine (déterminées par spectrophotométrie) ont été réunies pour être testées. Parallèlement, le culot globulaire d'un bovin sain a été préparé pour servir de témoin négatif.

Pour déterminer l'activité protéolytique, la méthode de ANSON (2) a été utilisée :

- les échantillons sont incubés avec le substrat (hémoglobine dénaturée à des pH différents 5,0 et 8,0) ;
- la réaction enzymatique est arrêtée en ajoutant de l'acide trichloracétique ;
- le tout est filtré et la concentration en protéine du filtrat déterminée ;
- la densité optique indique l'activité enzymatique ;
- une solution de trypsine à 0,005 mg/ml a servi de témoin positif.

Pour chaque échantillon, six analyses ont été réalisées et les résultats soumis à un test de "t" pour données non appariées.

Résultats

Les résultats figurent dans le tableau I, montrant l'absence quasi totale d'activité de la souche atténuée alors que la souche virulente a manifesté une forte activité hydrolytique, aussi bien à pH 5,0 ($P < 0,001$) qu'à pH 8,0 ($P < 0,1$).

TABLEAU I *Activité protéase déterminée sur des lignées virulente et atténuée d'une souche cubaine de Babesia bovis.*

pH hémoglobine	Activité enzymatique mesurée par la densité optique			
	Souche virulente	Souche atténuée	Témoin négatif	Témoin positif
8,0	0,2583	0,031	0,0017	0,0633
5,0	0,2463	0,0047	0,0003	0,1357

Discussion

WRIGHT et GOODGER (6) ont signalé la présence de protéases dans les souches de *Babesia bovis* ; selon WRIGHT (5,7), ces protéases activent l'enzyme plasma-

tique kallikreine, une des responsables du choc hypotenseur caractéristique de *B. bovis* ; la virulence des souches dépend donc de leur concentration en protéases.

La différence significative d'activité protéase entre lignées virulente et atténuée confirme les résultats antérieurs et fournit un critère d'évaluation *in vitro* de l'atténuation de *B. bovis*.

Les paramètres biologiques utilisés habituellement pour évaluer l'atténuation pourraient être influencés par les caractéristiques individuelles des animaux ; il est donc plus sûr de déterminer l'activité protéase de la souche supposée atténuée.

SAVON (L.C.), ALONSO (M.), RODRIGUEZ-DIEGO(J.), BLANDINO (T.). Determination of the protease activity in a Cuban *Babesia bovis* strain. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1992, **45** (1) : 30-31

The attenuation of a *Babesia bovis* strain depends on its protease content. The present work evaluates this parameter on a virulent strain, before and after attenuation by quick passages on splenectomized calves. The protease activity at different pH values was determined in protein fractions from the blood of calves. The enzymatic test showed marked differences between the protease content of both substrains. *Key words* : *Babesia bovis* - Cuban strain - Protease - Attenuation - Vaccine - Cuba.

Bibliographie

1. ALONSO (M.), FADRAGA (M.), BLANDINO (T.), GOMEZ (E.), BAUDIN (C.). Atenuacion de una cepa cubana de *Babesia bovis* con fines inmunoprolifáticos. *Revta Salud. Anim.*, 1991, **13** (1) : 81-83.
2. ANSON (M.L.). The estimation of pepsin, trypsin, papein and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.*, 1938, **22** : 79-85.
3. CALLOW (L.L.), MELLORS (L.T.), MCGREGOR (W.). Reduction in virulence of *Babesia bovis* due to rapid passage in splenectomised cattle. *Int. J. Parasitol.*, 1979, **9** : 333-338.
4. DE VOS (M.J.), BESSENGEN (R.), FOURIE (C.B.). Virulence and heterologous strain immunity of South African and Australian *Babesia bovis* strains with reduced pathogenicity. *Onderstepoort J. vet. Res.*, 1982, **49** : 133-136.
5. WRIGHT (I.G.). Biochemical characteristics of *Babesia* and physicochemical reactions in host. In : RISTIC (M.), KREIER (J.P.) Ed. Babesiosis. New York, Academic Press, 1981.
6. WRIGHT (I.G.), GOODGER (B.V.). Proteolytic enzyme activity in the intra-erythrocytic parasites *Babesia argentina* and *Babesia bigemina*. *Z. Parasitenk.*, 1973, **42** : 213-220.
7. WRIGHT (I.G.), GOODGER (B.V.), MAHONEY (D.F.). Virulent and avirulent strains of *Babesia bovis* : the relationship between parasite protease content and pathophysiological effect of the strain. *J. Protozool.*, 1981, **28** : 118-120.
8. WRIGHT (I.G.), MAHONEY (D.F.), MIRRE (G.B.), GOODGER (B.V.), KERR (D.D.). The irradiation of *Babesia bovis*. The immunogenicity of irradiated blood parasites for intact cattle and splenectomised calves. *Vet. Immunol. Immunopar.*, 1982, **3** : 591-601.
9. WRIGHT (I.L.). The probable role of *Babesia argentina* esterase in the *in vitro* activation of plasma prekallikrein. *Vet. Parasitol.*, 1975, **1** : 91-96.