

Études immunologiques sur les trypanosomoses

II. Observations nouvelles sur le type antigénique de base d'une souche de *Trypanosoma congolense*

par G. UILENBERG (*), L. MAILLOT (**) et M. GIRET (***)

RESUME

Il a été démontré que le type antigénique de base, apparaissant après transmission cyclique d'une souche de *Trypanosoma congolense*, peut changer au cours de nombreux passages directs et cycliques, et qu'il peut même changer, dans une certaine mesure, après une seule transmission cyclique. La conception d'un type de base très stable d'une souche donnée ne semble donc pas correspondre à la réalité. La comparaison de ce type, obtenu chez des moutons lors de l'accès latent précoce après transmission cyclique, à celui d'une autre lignée de la même souche, séparée de la première par de nombreux passages, indique qu'il se situe parmi des variants précoces de l'autre, et vice versa.

Il n'a pas encore été possible d'obtenir le type antigénique correspondant aux types des accès latents de moutons chez la souris inoculée avec des trypanosomes métacycliques, par des sous-inoculations avant le début de la parasitémie apparente.

L'évolution des infections chez les moutons est présentée. Il peut y avoir des réactions cutanées locales, là où les glossines infectées ont piqué; ces réactions sont associées à l'accès latent précoce et renferment des trypanosomes, dont certains ne sont pas des formes sanguines.

INTRODUCTION

Récemment, nous avons démontré chez une souche de *Trypanosoma congolense*, que le premier type antigénique, apparaissant chez des moutons après transmission cyclique, était le même chez chaque mouton et nous l'avons appelé « type antigénique de base » de la souche (7, 8); ce type ne pouvait être obtenu que pendant une courte période de parasitémie

latente précoce. Ces résultats étaient valables dans les limites du nombre de transmissions cycliques effectuées (7, p. 46) et la méthode sérologique employée.

La souche de *T. congolense* utilisée avait été reçue de l'E.A.T.R.O. (Ouganda) en décembre 1967. Il s'agit du stabilat EATRO-325, congelé dans le sang de souris, inoculées avec un broyat de quatre *Glossina pallidipes* capturées en octobre 1962 à Lugaza (Ouganda).

Une lignée de cette souche a subi, entre les mains de l'un d'entre nous (L. M.), une quarantaine de passages directs et 7 passages cycliques entre 1967 et 1970 (voir le tableau I). C'est à la fin de ces passages que cette lignée a été utilisée pour les recherches sur le type de base, exposées auparavant (7).

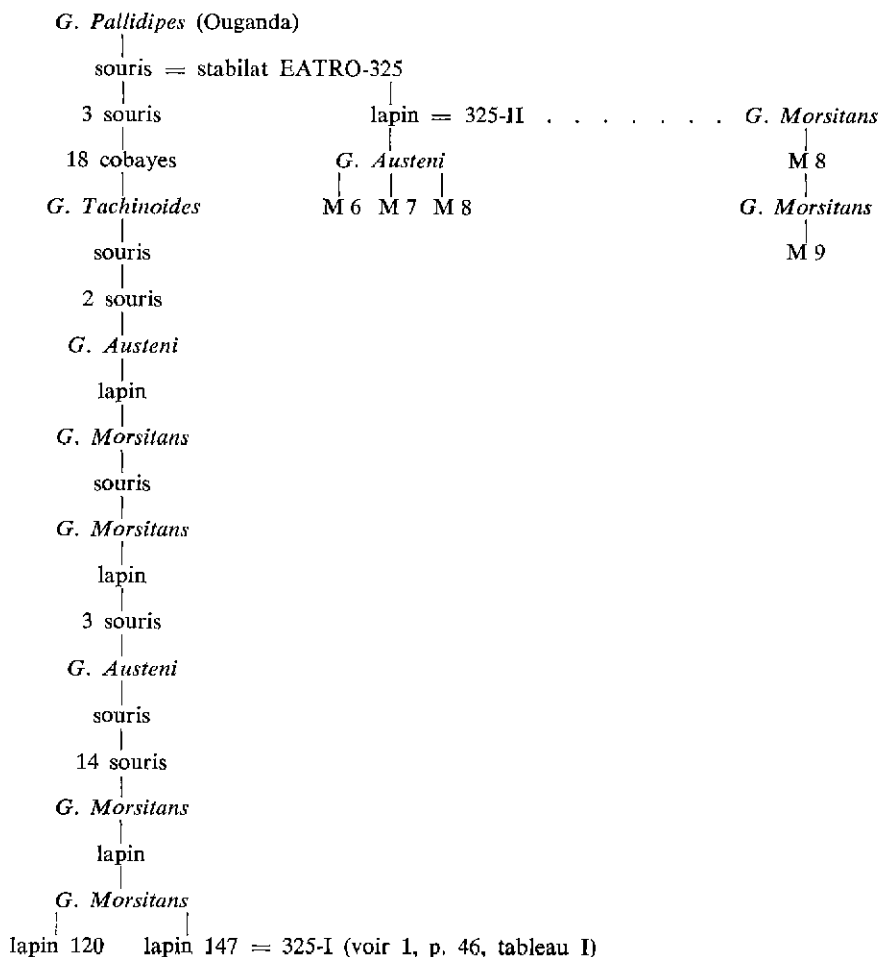
Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux, 10, rue Pierre Curie, 94 Maisons-Alfort, France.

(*) Adresse actuelle: F.A.O. Tick Project, P.O. Box 24, Entebbe, Uganda.

(**) Adresse actuelle: 43, avenue Ernest Reyer, 75014 Paris.

(***) Adresse actuelle: Service de l'Elevage. Projet Togo. I.E.M.V.T., Dapango, Togo.

TABLEAU I
Schéma des transmissions de la souche EATRO-325



L'E.A.T.R.O. nous a communiqué qu'il possède encore des capillaires du stabilat EATRO-325, ce qui présentait une occasion pour comparer le type de base de la souche congelée depuis 1962 à celui de notre lignée, pour vérifier s'il était resté stable après tant de passages ou non. Grâce à l'amabilité du Dr A. J. Wilson de l'E.A.T.R.O., nous avons reçu en août 1971, quelques capillaires du stabilat original de 1962. Les détails portés sur la fiche accompagnant le stabilat reçu en 1967 (que nous désignerons comme 325-I) et ceux de la fiche reçue avec le stabilat envoyé en 1971 (que nous appellerons 325-II) sont identiques et il n'y a pas de doute que les deux fiches se rapportent bien au même stabilat. Un léger doute quant à l'identité des deux souches pourrait provenir du fait que le Dr Wilson nous a fait savoir que la documentation de la « banque de trypanosomes » de l'E.A.T.R.O., antérieure

à 1969, était quelque peu incertaine, mais les résultats obtenus montreront que ce doute semble pouvoir être écarté.

Nous avons également continué à essayer d'obtenir le type de base chez des souris inoculées avec des trypanosomes métacycliques, en sous-inoculant leur sang à d'autres souris, avant le début de la parasitémie apparente (voir 7, p. 45).

MATERIEL ET METHODES

Ils ont été indiqués auparavant (7) en ce qui concerne la réaction de neutralisation et les animaux d'expérience.

Le contenu d'un capillaire du stabilat EATRO-325-II a été inoculé par voie intra-veineuse à un lapin neuf. Les trypanosomes

sont apparus dans son sang à partir du 6^e jour, et un lot de *Glossina austeni* (*) a alors été nourri quotidiennement sur ce lapin.

Environ 4 semaines après le premier repas infectant, ces *G. austeni* ont infecté deux moutons neufs (M 7 et M 8) et un troisième mouton qui avait déjà été infecté cycliquement par la souche 325-I, 71 jours plus tôt et avait été stérilisé de cette infection par une forte dose (10 mg/kg) d'acéturate de diminazine (Berenil, N.D.) 50 jours avant l'infection par 325-II [mouton M 6, voir la publication précédente (7)]. Les trois moutons ont été infectés par un seul repas des glossines [il restait environ 480 ♂ et 470 ♀], dont environ 3 p. 100 (10 sur 317 disséquées) avaient une infection de la trompe.

Un autre mouton neuf (M 9) a été infecté cycliquement par la même souche 325-II, après que celle-ci ait infecté le mouton M 8 pour une seconde fois, lors d'expériences sur l'immunité acquise par une infection cyclique contre une infection cyclique suivante. (Les détails de ces expériences seront donnés ultérieurement.) Un lot de *G.m. morsitans* (*) a été nourri sur le M 8 pendant 3 jours, lors de la parasitémie apparente de sa deuxième infection. Elles ont ensuite été nourries sur un lapin neuf. Quatre semaines après le premier repas sur le M 8, ce lot de *G.m. morsitans* a été nourri sur le mouton M 9, deux jours de suite. Celui-ci s'est infecté. (Le lot comptait alors environ 130 mouches, dont le taux d'infection n'a pas été déterminé.)

Le tableau I donne également le schéma des transmissions de 325-II.

Nous donnerons ci-dessous les observations faites sur l'évolution de l'infection chez ces 4 moutons et sur les types antigéniques obtenus chez eux, en les comparant aux types de la souche 325-I obtenus chez les moutons M 1 à M 6 (7).

Les résultats de quelques essais pour obtenir le type de base chez des souris seront également exposés.

Notons que la souche 325-II s'est montrée d'emblée aussi infectieuse pour la souris que la souche 325-I. Notons également que la conservation à l'état congelé du stabilat 325-II pendant presque 9 ans n'a apparemment pas affecté sa viabilité.

RESULTATS

Evolution chez les moutons

Le mouton M 6 (infecté auparavant par 325-I et guéri par le Berenil n'a pas présenté d'accès thermique précoce, mais son sang était infectieux pour la souris tout au moins à partir du 9^e jour (mais non au 7^e); la parasitémie est devenue apparente au microscope le 15^e jour, tandis que la température s'est élevée pour la première fois à partir du jour suivant. (Notons que l'accès thermique précoce de ce sujet avait été tardif et fugace lors de son infection par 325-I, et que son sang était devenu infectieux plus tard que chez les moutons M 1 à M 5, voir 7, p. 42.) L'infection précédente par 325-I ne lui a donc conféré aucune protection contre l'infection par 325-II.

Le mouton neuf M 7 présentait déjà avant l'infection des accès irréguliers d'hyperthermie (qui se sont avérés être dus à une affection pulmonaire); nous ne pouvons donc pas tenir compte de l'évolution de sa température. Son sang est devenu infectieux pour la souris à partir du 8 jour après le repas des glossines; sa parasitémie apparente a commencé au 16^e jour.

Le mouton neuf M 8 a présenté l'accès thermique précoce typique [dont nous avons signalé (7) l'existence chez les moutons infectés par 325-I], du 7^e au 9^e jour, tandis que la parasitémie restait inapparente au microscope. Son sang était infectieux pour la souris à partir du 7^e jour, et la parasitémie apparente a commencé le 12^e jour (notons qu'un seul trypanosome a été observé dans une goutte épaisse faite le 10^e jour), tandis que la température s'est de nouveau élevée le 15^e jour, ce qui coïncidait avec l'acmé du premier accès parasitémique apparent.

Le mouton neuf M 9, enfin, a présenté un accès thermique précoce du 6^e au 7^e jour; il a ensuite eu des accès thermiques fréquents, mais la parasitémie n'est devenue apparente que

(*) Ces mouches proviennent de l'élevage du Dr J. Itard de notre Institut; elles ont été exposées à l'infection dès leur premier repas après l'éclosion.

30 jours après l'infection. Le sang était infectieux pour la souris à partir du 6^e jour.

Notons que nous n'avons pas pu observer chez ces moutons une diminution ou disparition de l'infectiosité du sang entre le premier accès latent et la première parasitémie apparente, telle que nous l'avions constatée chez au moins 4 des 6 moutons infectés par 325-I (7).

Les moutons M 7, M 8 et M 9, mais non le M 6, ont présenté des réactions cutanées locales, à l'endroit où les glossines avaient piqué, semblables aux réactions signalées au Nigéria chez des bovins et un mouton (6) et comparables au chancre trypanosomien connu depuis le début du siècle chez l'homme infecté par la maladie du sommeil [voir par exemple (5)]. Nous n'en n'avions pas observées chez les 6 moutons infectés auparavant avec la souche 325-I, mais nous ne les avons pas spécialement cherchées. Ces réactions commencent avec le début de l'accès latent (voir le tableau II, donnant comme exemple l'évolution chez un des moutons). Leur nombre correspond probablement au nombre de piqûres infectantes et il a varié de 4 à 11; toutes les réactions d'un même animal n'apparaissent pas toujours le même jour, il peut y avoir un écart de 1 à 2 jours entre l'apparition des réactions individuelles, et également entre leur disparition. Toutes ont entièrement disparu de 5 à 7 jours après l'apparition des premières. Leur diamètre a atteint de 2 à 5 cm dans la peau du dos et des flancs (où les glossines ayant infecté le M 7 et le M 8 avaient été nourries); sur les oreilles (M 9) elles n'ont pas dépassé 2 cm. Leurs consistance et épaisseur rappellent celles d'une réaction bien positive à la tuberculination d'un bovin. Elles sont douloureuses, parfois très douloureuses, à la pression. Le liquide obtenu des réactions par incision ou grattage renferme des trypanosomes (tout au moins au début et au maximum de leur développement), qui peuvent être si nombreux qu'ils sont facilement trouvés au microscope, bien que la parasitémie de l'animal reste latente. La morphologie de certains de ces trypanosomes est similaire à celle décrite de certaines formes dans les réactions cutanées au Nigéria (6) (formes plus longues que les formes sanguines habituelles et ayant un kynétoplaste situé loin de l'extrémité postérieure).

Types antigéniques obtenus

Le tableau III montre les résultats de quelques uns des tests effectués.

Les résultats obtenus avec les types de l'accès latent des divers moutons et le sérum du 21^e jour du mouton M 5, prouvent que les types de l'accès latent des 4 moutons infectés avec la souche 325-II sont dans tous les cas différents du type de base de 325-I; ce sérum, qui neutralise complètement le type de l'accès latent des moutons infectés par la souche 325-I, ne neutralise que partiellement le type de l'accès latent de M 9 et pas du tout celui de M 7 et M 8. Seul celui de M 9, bien que différent, est donc apparenté au type de base de 325-I (*). Le type de l'accès latent du M 6, après sa deuxième infection, par 325-II, n'est pas du tout neutralisé par ce sérum non plus, mais ce type a pu être influencé par la présence d'anticorps apparus après sa première infection par 325-I.

Quelques autres tests (non toujours indiqués dans le tableau, pour que celui-ci soit plus lisible) confirment ce résultat; par exemple, le sérum de M 3 du 19^e jour ne neutralise que partiellement le type de l'accès latent de M 8, bien qu'il neutralise complètement le type de base de 325-I; même résultat avec ces stabilats et le sérum de M 6, 31 jours après sa première infection par 325-I.

Par ailleurs, des sérums de moutons infectés par la souche 325-I, qui neutralisent non seulement le type de base de 325-I, mais également des types parmi les premiers variants apparus après ce type de base [par exemple le sérum de M 3 du 28^e jour, de M 5 du 35^e jour (voir aussi 1, p. 49-50)], neutralisent les types de l'accès latent de 325-II de M 6, M 7, M 8 et M 9; inversement, des sérums de moutons infectés par 325-II neutralisent le type de base de 325-I.

D'autre part, à l'opposé de ce que nous avons trouvé avec la souche 325-I, il y a des différences entre les types de l'accès latent des

(*) Le sérum de M 5 du 21^e jour ne neutralise pas du tout le premier type de la parasitémie apparente de M 5 (1, p. 50) et nous le considérons comme sérum monovalent contre le type de base de 325-I; si donc certains types sont partiellement neutralisés par ce sérum, ils sont apparentés au type de base de 325-I, bien qu'ils ne soient pas identiques. Le taux d'anticorps contre le type de base de 325-I est si élevé dans ce sérum qu'il neutralise encore complètement après dilution au 1/20.

TABLEAU II

Evolution de l'infection chez le mouton M 8. L'infectiosité du sang n'a plus été vérifiée après le 16^e jour.

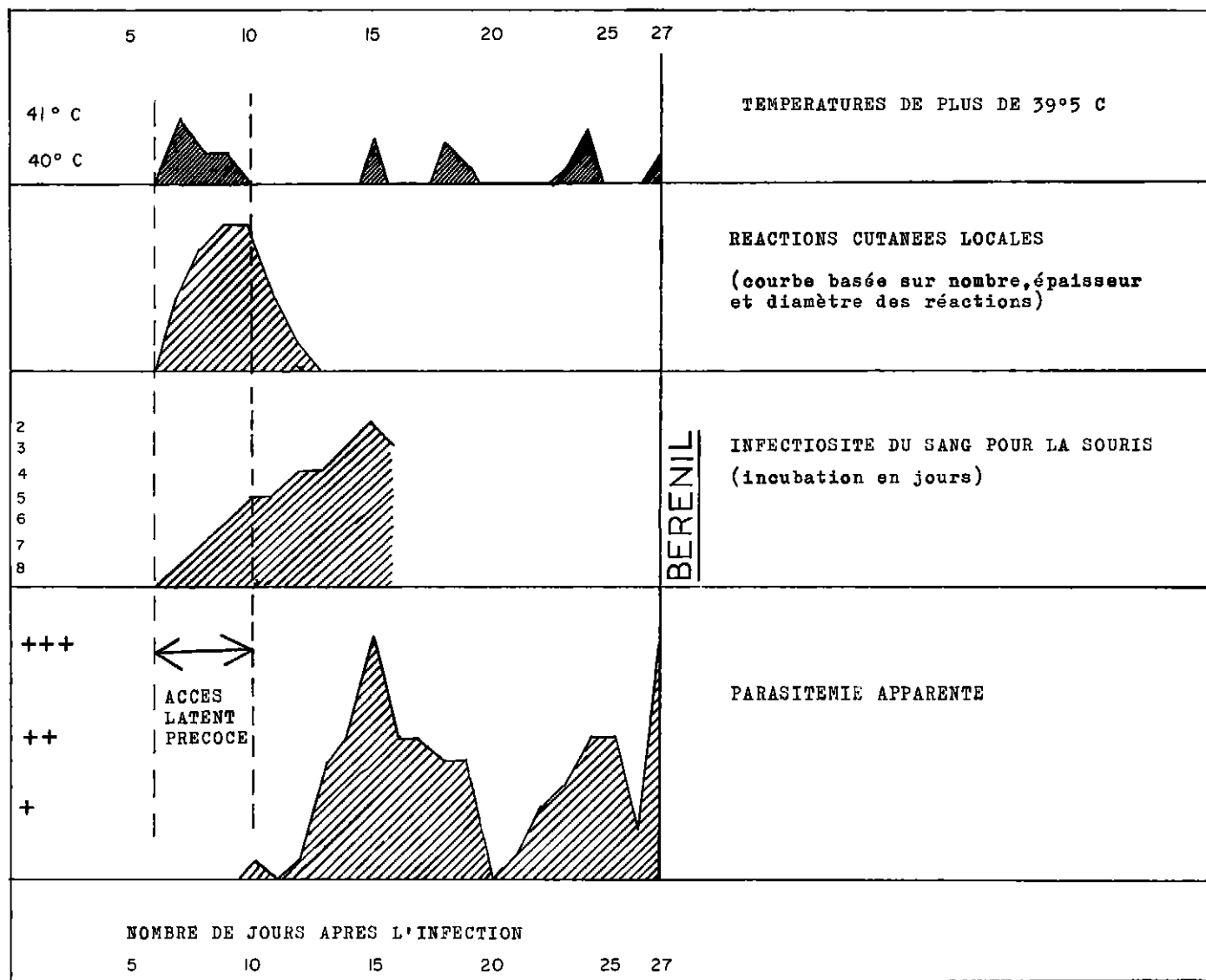


TABLEAU III

Quelques résultats de tests de neutralisation comprenant le type de base de la lignée 325-I aux types des accès latents de la lignée 325-II
 Pour la signification des signes, se reporter à la légende des tableaux III et IV publiés antérieurement (7, p. 48).

STABILATS ACCES LATENTS		JOURS APRES L'INFECTION													
		M 3		M 5		M 6		M 6		M 7		M 8		M 9	
		19	28	21	35	21	31	18	22	21	22	23	21	24	20
325 - I	M 2	■		■		■									
	M 3	■		■		■									
325 - II	M 6	■		⊗		■		■		■		■		■	
	M 7	■		⊗		■		■		■		■		■	
		325 - I				325 - II									
S E R U M S															

moutons infectés par 325-II. Sans tenir compte du mouton M 6, dont ce type a pu être influencé par la présence d'anticorps contre les différents types antigéniques de 325-I, apparus lors de sa première infection, ces types sont différents d'un mouton à l'autre, bien qu'ils soient apparentés l'un à l'autre. Par exemple, les stabilats de M 7 et M 8 ne se comportent pas de façon identique envers les sérums de M 7 du 22^e et 23^e jours; le stabilat de M 9 se montre différent de ceux de M 7 et M 8 envers le sérum de M 5 du 21^e jour et celui de M 9 du 24^e jour.

Ajoutons que nous avons également testé le type des trypanosomes obtenus d'une réaction cutanée du mouton M 7, 11 jours après son infection; ce type n'était pas le même que le premier type de l'accès latent de ce mouton, obtenu 3 jours plus tôt.

Essais pour obtenir le « type de base » chez la souris inoculée avec des trypanosomes métacycliques

Nous avons vu (7) que le type de la première parasitémie apparente chez la souris ne correspond pas au type de l'accès latent des moutons, et nous avons évoqué la possibilité d'un accès latent chez la souris, où les trypanosomes seraient du type de base.

Un lot de souris a été inoculé avec des trypanosomes métacycliques de la souche 325-I. Une sous-inoculation à d'autres souris, 4 jours plus tard, a donné des résultats négatifs; par contre, le sang était infectieux pour d'autres souris 6 jours après l'inoculation des trypanosomes métacycliques, 2 jours avant le début de la parasitémie apparente. Le type antigénique des trypanosomes obtenus par cette sous-inoculation n'était pas du type de base des moutons (absence totale de neutralisation par des sérums neutralisant le type de base).

Un autre lot de souris a été inoculé avec des trypanosomes métacycliques de la souche 325-II. Une sous-inoculation à d'autres souris après 4 jours a été réussie, 3 jours avant le début de la parasitémie apparente. Le type du stabilat obtenu était différent des types des accès latents des 4 moutons infectés par cette souche (neutralisation partielle par le sérum de M 6 du 22^e jour après son infection par 325-II, neutralisation partielle également par le sérum de M 7 du 23^e jour. Le sérum de M 6 utilisé a complètement neutralisé les types des

accès latents des 4 moutons infectés par 325-II, voir tableau IV).

Les essais ont donc été un échec.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le type de base de 325-I n'est pas le même que celui de 325-II. Etant donné que les sérums de moutons infectés par une des souches finissent par neutraliser les types des accès latents de l'autre souche (*), les types des accès latents d'une souche semblent néanmoins se situer parmi les types prédominants (***) de l'autre, ou tout au moins être étroitement apparentés à certains de ces types.

Le type de base a donc changé au cours des nombreux passages effectués entre 1967 et 1970. Mais, de plus, et ceci est particulièrement important, nous n'avons pas pu mettre en évidence un type de base stable chez la souche 325-II et le type de l'accès latent du dernier passage cyclique, chez le M 9, est de nouveau apparenté au type de base de 325-I, tandis que ceux de M 6, M 7 et M 8 semblent en différer complètement. [Notons aussi que le sérum de M 9 du 24^e jour neutralise complètement le type de l'accès latent de M 3 infecté par 325-I), à l'opposé des types des accès latents de M 7 et M 8, ce qui confirme que le type de l'accès latent de M 9 semble se rapprocher de nouveau du type de base de 325-I.]. Nous ne pouvons actuellement pas expliquer pourquoi les types des accès latents des moutons infectés par la souche 325-I se sont comportés de façon identique dans nos tests (***), au point que nous avons cru pouvoir parler d'un type de base (7), tandis que ceux des moutons infectés par la souche 325-II se sont seulement montrés apparentés entre eux.

L'espoir d'une immunisation contre les infections cycliques par *T. congolense*, utilisant des trypanosomes des types antigéniques des accès latents, ou même des trypanosomes métacy-

(*) Ce fait semble écarter la possibilité que le stabilat EATRO-325 serait à l'origine un mélange de 2 ou plusieurs souches, dont une seule aurait persisté dans la lignée 325-I.

(**) Les antigènes ayant tendance à se développer chez une souche donnée à un stade précoce de l'infection ont été nommés ainsi par Gray (2, 3).

(***) D'autres tests non publiés avec les types des accès latents de ces moutons n'ont toujours pas permis de mettre en évidence des différences entre eux.

cliques, semble donc reculer. Il serait néanmoins intéressant de déterminer si le nombre possible au total de types antigéniques des accès latents d'une souche donnée, est faible ou grand; s'il est faible, un espoir d'immunisation persiste peut-être, au cas où le nombre de souches différentes dans une région n'est pas très élevé. La détermination du nombre de souches utilisant uniquement le type de l'accès latent ne suffit pas, comme nous l'avions auparavant pensé (7); en effet, cette méthode donnerait un plus grand nombre de souches qu'il n'en existe en réalité, tout comme la méthode de DAR et al. (1), qui utilise le type antigénique du premier accès apparent et des sérums précoces. La méthode de GRAY (4), utilisant, chez *T. gambiense*, un des types prédominants et du sérum contre le plus grand nombre possible de types prédominants de la souche, pourrait donner des résultats plus pré-

cis, surtout si on ne travaillait qu'avec des infections transmises cycliquement, et à condition que différentes souches n'aient pas, parfois, des antigènes variables communs.

L'échec des essais pour obtenir chez la souris un type antigénique correspondant au type de l'accès latent des moutons reste inexplicé. Il est possible que les variations antigéniques se produisent plus rapidement chez la souris que chez le mouton, la voie d'inoculation n'étant pas la même dans les deux cas (intrapéritonéale chez la souris, intradermique par la glossine chez le mouton) et le métabolisme des souris étant plus élevé que celui des moutons. Les essais sont à reprendre en sous-inoculant encore plus tôt après l'injection des trypanosomes métacycliques. Il serait avantageux de réussir, l'utilisation de moutons, toujours onéreuse, serait alors évitée.

SUMMARY

Immunological studies on trypanosomiasis II. New observations on the basic antigenic type of a strain of *Trypanosoma congolense*

It has been shown that the basic antigenic strain type, appearing after cyclical transmission of a strain of *Trypanosoma congolense*, can change over numerous direct and cyclical passages, and that it can even change to a certain extent after one single cyclical transmission. The conception of a very stable basic strain type therefore does not seem to correspond to reality. The comparison of the type obtained in sheep during the early latent parasitaemia after cyclical transmission, to that of another line of the same strain, separated from the first line by numerous passages, indicates that it can be situated among the early variants of the other line, and vice-versa.

It has not yet been possible to obtain the antigenic type corresponding to the types of the latent parasitaemias of sheep, in mice that were inoculated with metacyclical trypanosomes, by subinoculating before the beginning of the patent parasitaemia.

The evolution of the infections in the sheep is presented. Local cutaneous reactions may appear, where infected tsetse flies have bitten; these reactions are associated with the early latent parasitaemia and contain trypanosomes, some of which are not blood-stream forms.

RESUMEN

Estudios inmunológicos sobre las tripanosomiasis II. Observaciones nuevas sobre el tipo antigénico de base de una cepa de *Trypanosoma congolense*

Se demostró que el tipo antigénico de base, apareciendo después de una transmisión cíclica de una cepa de *Trypanosoma congolense*, puede cambiar durante numerosos pasajes directos y cíclicos, y que aún puede cambiar, hasta un cierto punto, después de una sola transmisión cíclica. La concepción de un tipo de base muy estable de una cierta cepa no parece corresponder a la realidad. La comparación de este tipo, obtenido en oveja en el momento del acceso latente precoz después de transmisión cíclica, con el de otro tronco de la misma cepa, separada de la primera por numerosos pasajes, indica que se coloca entre variantes precoces del otro y viceversa.

Hasta ahora no fué posible obtener el tipo antigénico correspondiente a los tipos de los accesos latentes de ovejas en el ratón inoculado con tripanosomos metacíclicos, mediante subinoculaciones antes el principio de la parasitemia aparente.

Se presenta la evolución de las infecciones en la oveja. Se pueden ocurrir reacciones cutáneas locales, donde las glosinas pincharon. Dichas reacciones estan ligadas con el acceso latente precoz y se encuentran tripanosomos, de los cuales ciertos no son formas sanguíneas.

BIBLIOGRAPHIE

1. DAR (F.K.), GOEDBLOED (E.), LIGHTHART (G. S.), MINTER (D. M.), PARIS (J.), WATAAKA (S.) et WILSON (A. J.). Some results of isolation and serological typing of salivarian trypanosomes currently being circulated in different areas of East Africa. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1971, **65**: 250-251.
2. GRAY (A.R.). The biological control of the antigenic characters of a strain of trypanosomes. *10^e réunion Com. Sci. Int. Rech. Tryp. (C.C.T.A.)*, Kampala, 1964: 55-59.
3. GRAY (A.R.). Antigenic variation in clones of *Trypanosoma brucei*. I. Immunological relationships of the clones. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1965, **59**: 27-36.
4. GRAY (A.R.). Variable agglutinogenic antigens of *Trypanosoma gambiense* and their distribution among isolates of the trypanosome collected in different places in Nigeria. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1972, **66**: 263-284.
5. RINGENBACH (J.). Sur un cas de maladie du sommeil chez l'Européen, avec phénomènes cutanés particuliers. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1913, **6**: 628-631.
6. ROBERTS (C.J.), GRAY (M.A.) et GRAY (A.R.). Local skin reactions in cattle at the site of infection with *Trypanosoma congolense* by *Glossina morsitans* and *G. tachinoides*. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1969, **63**: 620-624.
7. UILENBERG (G.) et GIRET (M.). Etudes immunologiques sur les trypanosomoses. I. Existence d'un type antigénique de base chez une souche de *trypanosoma congolense* Broden, 1904 - Variations après transmission cyclique. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1972, **25**: 37-52.
8. UILENBERG (G.) et GIRET (M.). Antigenic types of a strain of *Trypanosoma congolense* after cyclical transmission. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1972, **66**: 343-344.