

## Une méthode simple pour obtenir directement des isolats de *Trypanosoma cruzi* à partir du tube digestif du triatome vecteur <sup>(1)</sup>

Michel TIBAYRENC <sup>(2)</sup>

Lourdes ECHALAR <sup>(3)</sup>

Philippe DESJEUX <sup>(4)</sup>

### Résumé

*Nous décrivons ici une méthode directe pour obtenir des isolats de Trypanosoma cruzi à partir de l'insecte vecteur, sans passer par l'étape intermédiaire d'inoculation à la souris.*

**Mots-clés :** Triatome — *Trypanosoma cruzi* — Isolement direct.

### Summary

A SIMPLE METHOD TO OBTAIN STOCKS OF *Trypanosoma cruzi* FROM GUT OF TRIATOMINE BUG VECTOR.

*We describe here a direct method to obtain stocks of Trypanosoma cruzi from the insect vector, without using the intermediary stage of inoculation to the mouse.*

**Key words :** Triatomine bug — *Trypanosoma cruzi* — Direct isolation.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

A peu près toutes les extractions ont été pratiquées à partir de *Triatoma infestans* infectés capturés en Bolivie. Cependant, les quelques manipulations que nous avons effectuées sur des espèces différentes (*Triatoma sordida*) ont également été couronnées de succès.

On commence par sélectionner les triatomes positifs par examen au microscope d'une goutte de fécès diluée dans du sérum physiologique. Même les triatomes dont les fécès sont peu riches ou ne présentent que des trypanosomes morts sont

retenus. On ensemece également les triatomes positifs morts, s'ils ne sont pas déshydratés.

En effet, les trypanosomes du tube digestif survivent plusieurs heures à la mort du triatome. On peut utiliser les adultes, et les larves de stade 3, 4 et 5. Les larves de stade 1 et 2 sont trop petites.

Le milieu utilisé pour l'ensemencement proprement dit est le GLSH (Le Ray 1974). Le matériel nécessaire est le suivant : pinces fines, petits ciseaux, spatule de pesée en métal, de longueur légèrement supérieure à celle du tube d'ensemencement. Entre chaque ensemencement, il n'est pas nécessaire de stériliser les instruments. On se contente de les

(1) Travail réalisé avec l'aide de la Coopération Technique Française (Ministère des Affaires Étrangères) et de la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique — N° d'aide PVD/81.2.1423.

(2) Entomologiste médical O.R.S.T.O.M. Instituto Boliviano de Biología de Altura, Embajada de Francia, Casilla 824, La Paz, Bolivia.

(3) Assistante de recherche IBBA, même adresse.

(4) Co-directeur IBBA, même adresse.

flamber deux fois à l'alcool : l'extrémité des pinces et des ciseaux est plongée dans un bécber de dimensions appropriées rempli d'alcool, la spatule est immergée (sauf l'extrémité que l'on saisit) dans une éprouvette d'alcool de longueur convenable.

Les ensemencements se font bien entendu sous une hotte à flux laminaire. Des gants épais et des lunettes protectrices sont indispensables.

Le triatome sélectionné est immergé pour dix secondes dans une solution aqueuse à 2 % de Chlorhexidine (Hibitane<sup>®</sup>, Imperial Chemical Industries), agent antibactérien et antifongique. En maintenant l'insecte par la tête, on lui sectionne ensuite l'extrémité postérieure à l'aide des ciseaux, et on extrait le tube digestif total avec les pinces. Les viscères sont ensuite déposés sur l'extrémité de la spatule. On introduit cette dernière dans le tube de milieu de culture, et on laisse tomber les viscères au fond du milieu en imprimant un mouvement alternatif rapide à la spatule. Il est possible de séparer les viscères en deux, et d'ensemencer ainsi deux tubes (éventuellement remplis de milieux de culture différents : voir plus loin).

## RÉSULTATS

A titre d'exemple, nous donnons les résultats récemment obtenus sur 57 triatomes : cultures positives au bout d'une semaine : 45 (79 %) ; cultures négatives : 12 (21 %). Contaminations bactériennes : 2 (moins de 4 %) ; contaminations fongiques : 8 (14 %).

Une partie des cultures positives contaminées par des champignons peut être sauvée par repiquage en milieu GLSH additionné de 5-Fluoro-

cytosine (10 mg/ml). Le succès semble dépendre beaucoup de l'espèce fongique en cause.

Dans les conditions les plus défavorables (triatome mort porteur de trypanosomes morts), on obtient encore environ 50 % de positivité au bout d'une semaine.

La vitesse de multiplication dépend beaucoup de chaque isolat. Certains semblent s'accommoder assez mal du GLSH, et après une phase initiale normale, se multiplient pendant plusieurs semaines en formes aflagellées (ce qui n'empêche pas l'étude iso-enzymatique par exemple). Des essais, apparemment concluants, sont en cours pour repiquer les isolats paresseux dans un milieu plus riche (NNN B45).

Dans les cas les plus nombreux, l'isolat est assez propre dès le second repiquage pour être récolté en vue des études électrophorétiques.

## CONCLUSION

Cette méthode simplifiée est utile pour les études extensives ; elle nous a permis d'obtenir à ce jour plus de 250 isolats de *Trypanosoma cruzi*, avec un travail très allégé. Un certain nombre d'échecs semblant imputables au milieu utilisé, nous espérons augmenter le pourcentage de succès par l'utilisation d'autres milieux (LIT, NNN).

S'il s'agit d'isoler un nombre restreint de souches précieuses, il est prudent de pratiquer conjointement l'inoculation à la souris, ou au moins, d'ensemencer deux tubes avec des milieux de culture différents.

*Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M. le 14 juin 1982.*

## BIBLIOGRAPHIE

LE RAY (D.), 1974. — Les structures antigéniques de *Trypanosoma brucei brucei* (Protozoa, Kinetoplastida). Analyse

immunoélectrophorétique et étude comparative. Thèse Sciences, Université catholique de Louvain.