

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
ET TECHNIQUE OUTRE-MER

CENTRE DE BRAZZAVILLE

SERVICE D'ENTOMOLOGIE  
MEDICALE ET PARASITOLOGIE

129/72/J.L. F.

16 septembre 1972  
-----

ISOLEMENT DE SOUCHES DE Trypanosoma brucei gambiense  
EN REPUBLIQUE POPULAIRE DU CONGO  
CONSEQUENCES PRATIQUES ET CONSIDERATIONS EPIDEMIOLOGIQUES

par

J.L. FREZIL (x)  
-----

(x) Chargé de recherche de l'O.R.S.T.O.M.

19 DEC. 1972 Ex 1  
O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence  
n° 7271 Ent. Med.

## I- MATERIEL ET METHODES

Au cours de ces deux dernières années, nous avons effectué 18 tentatives d'isolement de souches de T. brucei gambiense sur Cricetomys, rats blancs, souris blanches et cobayes.

Précisons tout de suite que nous avons fait ce travail uniquement pour nous procurer du matériel et non dans un but diagnostique.

Les inoculations ont été réalisées soit au cours de prospections "trypanosomiase" menées par le Service des Grandes Endémies, soit en poste fixe au Secteur N° 1 de Brazzaville.

Nous avons utilisé la technique suivante : 1 à 2 cc de sang veineux sont prélevés au pli du coude du patient avec une seringue héparinée, puis injectés à l'animal par voie intrapéritonéale.

Tous les 2 jours on observe entre lame et lamelle, une goutte de sang prélevée à la queue ou à l'oreille de l'animal.

## II- RESULTATS

Pour plus de commodité, nous avons réparti nos résultats en trois groupes :

1er groupe = tous les rongeurs inoculés deviennent positifs.

2me groupe = une partie des rongeurs inoculés devient positive.

3me groupe = tous les rongeurs inoculés restent négatifs.

### - 1er groupe

Nous avons effectué 5 inoculations au cours d'une prospection dans la région de Loudima et 4 inoculations à Brazzaville.

Les résultats apparaissent dans le tableau ci-dessous :

1er Groupe

Origine	Date	Espèce animale	Nombre d'animaux inoculés	Date de lère apparition des trypanosomes	Nom de la souche
Homme 22 ans Loudima	:27 Oct.	70:Rats blancs	: 2	:15-31 jours	: R
Femme 35 ans Loudima	:27 Oct.	70:Rats blancs	: 2	:22 et 44 j.	: Y
Femme 35 ans Loudima	:16 Nov.	70:Rats blancs :splénectomisés:	: 3	:9-9 et 9 j.	: P
Homme 20 ans Loudima	:17 Nov.	70:Rats blancs :splénectomisés:	: 4	:10-10-36-21 : jours	: A
Homme 25 ans Loudima	:17 Nov.	70:Rats blancs :splénectomisés:	: 3	:35-35-24 j.	: N
Femme 35 ans Mpouya	:06 Août	71:Rat blanc	: 1	:128 jours	: O
Homme 40 ans Ngabé	:07 Oct.	71:Cricetomys	: 1	: 13 jours	: M
Garçon 10 ans B/ville	:04 Nov.	71:Cobaye	: 1	: 11 jours	: E
Homme 50 ans Moupepe	:24 Juin	72:Rats blancs	: 2	:18 et 27 j.	: G
			: 19		

L'étude de ce tableau fait apparaître que la splénectomie ne semble pas jouer de rôle prépondérant sur la rapidité d'apparition des trypanosomes. En effet, si les rats de la souche P ont présenté une infection décelable 9 jours seulement après l'inoculation, par contre les trypanosomes ne sont apparus qu'au bout de 24 jours dans la souche N.

La souche O constitue un cas intéressant puisque les trypanosomes ont été vus pour la première fois dans le sang circulant 128 jours après l'inoculation. Dès le départ cette souche a présenté un caractère chronique.

Tous les malades de ce groupe étaient en première période ou au début de la deuxième. Les 5 malades de Loudima dépistés au cours d'une prospection, étaient tous apparemment en bonne santé.

Ceux des souches O, M et E, bien qu'en deuxième période, présentaient un bon état général.

L'homme de la souche G, dépisté après une enquête IgM ignorait même qu'il fût malade.

- 2ème groupe

Nous n'avons ici que deux cas, mais le premier est très intéressant (Tableau).

2ème Groupe

Origine	Date	Espèce animale	Nombre d'animaux inoculés	Nombre de points	Date de l'apparition des trypanosomes	Nom de la souche
Femme 40 ans Oloua	12 Oct. 70	Rats blancs Cricetomys	2 2	1	15 jours	T
Femme 35 ans Mpouya	06 Août 71	Rats blancs	2	1	19 jours	S
			6			

En effet cette femme d'Oloua présentait un état général médiocre. Le LCR était indemne de trypanosomes, seul le sang était positif.

A partir du premier Cricetomys infecté nous avons fait un passage sur 4 rats et 2 Cricetomys : Aucun d'entre eux n'a été positif. Ce qui indique le peu de virulence de cette souche déjà difficilement isolée.

3ème groupe

Dans le tableau ci-dessous, nous avons consigné quelques observations sur l'état des malades.

3ème Groupe

Origine	Date	Etat général	T. +	L. C. R.	Animaux inoculés
Homme 18 ans Mouyondzi	11 Août 70	Médiocre	Sang et LCR	215 cellules 0,75 albumine	4 rats blancs
Femme 50 ans Loudima	08 Oct. 70	Très mauvais (graba-taire)	L.C.R.		2 Grice-tomys
Garçon 5 ans Mpouya	20 Oct. 70	Médiocre	Ganglion Sang et LCR	88 cellules 0,36 albumine	5 rats blancs
Femme 25 ans Jacob	19 Jan. 71	Très mauvais	Sang et LCR	172 cellules 0,70 albumine	2 rats blancs
Homme 34 ans Moussassi	21 Juin 72	Bon	Sang (DE ● cellule lose)	0 cellule 0,25 albumine	2 rats blancs

Nous constatons que les 4 premiers cas concernent des individus en deuxième période avancée.

En effet, tous ont des trypanosomes décelables dans le LCR et un état général médiocre ou très mauvais.

Par contre, le dernier cas concerne un sujet considéré suspect par les IgM et dépisté uniquement par filtration sur DEAE cellulose. Cet homme ne ressentait aucun trouble et doit être considéré comme un sujet en début d'infection, ou comme porteur sain.

Dans ce cas précis, nous pensons que les rats n'ont pas développé d'infection parce que le nombre de trypanosomes inoculés était insuffisant.

Signalons que nous avons inoculés à des souris blanches, par voie intrapéritonéale et intraveineuse, le culot positif de deux filtrations sur colonne de cellulose.

Bien que ces filtrations aient été faites avec du sang de deux malades en première période, dépistés par la présence de trypanosomes dans les ganglions, le résultat a été négatif.

Nous avons constaté que les trypanosomes étaient bien vivants au moment de l'inoculation ; malgré cela, nous ne pouvons considérer cette expérience comme entièrement probante. En effet les trypanosomes ont pu être altérés par les différentes manipulations et changements de milieux.

## DISCUSSION

Bien que notre expérimentation ne porte que sur un nombre limité, de cas, nous pouvons dégager quelques observations :

1<sup>er</sup> - Il est relativement facile d'isoler des souches de T. gambiense sur rats en République Populaire du Congo. En effet, sur 16 tentatives, 9 ont été entièrement couronnées de succès, 2 partiellement et 5 ont été négatives.

2<sup>o</sup> - Pratiquement, tous les passages effectués à partir d'individus en bon état général ont réussi. Les passages faits à partir de sujets plus atteints n'ont réussi que partiellement. Ceux effectués avec des malades en deuxième période avancée ont échoué.

Cette observation confirme bien la théorie du vieillissement des souches : "On sait maintenant que la persistance d'un trypanosome chez le même hôte vertébré entraîne d'une façon quasi constante l'affaiblissement, sinon la perte de sa transmissibilité" (PELISSIER in LAPEYSONNIE 1960), et démontre par là même le peu de rentabilité du diagnostic par passage sur rongeurs de laboratoire :

- D'une part à cause de la longueur du procédé. (Rappelons que nous avons mis 128 jours à déceler la souche 0).

- D'autre part parce que seules les souches "fraîches" sont susceptibles de passer. Or c'est souvent en deuxième période que la mise en évidence des trypanosomes est difficile et intéressante.

Rappelons que MOLYNEUX (1972) a réalisé avec un fort pourcentage de succès des inoculations intratesticulaires sur lapin à partir de suc ganglionnaire mais là encore les ganglions disparaissent souvent au cours de la deuxième période. Ce procédé ne peut donc être utilisé efficacement à ce stade de la maladie.

3° - Les inoculations de culots positifs provenant de deux filtrations sur colonnes de cellulose, ainsi que du sang d'un homme positif à la filtration (3ème groupe, dernier cas) n'ont rien donné. Ce qui semble indiquer la valeur diagnostique de cette nouvelle méthode d'isolement.

Ce phénomène du vieillissement des souches nous amène à nous poser quelques questions d'ordre épidémiologiques. En effet, cette perte de virulence chez les animaux de laboratoire va manifestement de pair avec la perte d'infectivité pour les glossines.

HOARE, en 1949, rapportait que le pouvoir infectant des trypanosomes pour la glossine est plus grand dans les premiers stades de la maladie, décline graduellement alors que la maladie progresse,

et peut être perdu dans les cas d'infections chroniques de longue durée. Dans un même ordre d'idées, WATSON (1962) a constaté que les glossines nourries sur cochons noirs infectés par T. gambiense ne développaient des infections matures que si le repas infectant était pris moins de 41 jours après l'inoculation du porc.

Mais alors dans ce cas, comment admettre l'existence de Réservoirs de Virus tant humains qu'animaux, puisque la virulence se perd avec le temps.

Car à notre sens on ne peut considérer comme réservoir de virus valable qu'un être capable d'héberger des trypanosomes virulents pendant plusieurs mois, voire plusieurs années. Tout au moins si l'on veut expliquer les épidémies de trypanosomiase séparées par plusieurs décades. On pourrait interpréter ce fait en admettant que la souche de trypanosome garde sa potentialité uniquement chez les porteurs sains ou ceux en début d'infection, tant que la maladie ne s'est pas déclarée.

En effet, les réponses immunologiques successives, et en particulier les crises trypanolytiques, doivent provoquer une altération du parasite se traduisant par une perte progressive de virulence. Tandis que dans les cas de portage, l'activité immunologique, probablement restreinte, n'affecte pas les trypanosomes.

D'ailleurs, on connaît quelques cas de trypanosomiasés développées par des Africains ayant quitté depuis plusieurs années les zones à glossines, avec "des manifestations cliniques apparemment initiales". (COLLOMB et al. 1956).

Il serait donc très intéressant de rechercher de tels cas et d'étudier la virulence de leurs souches pour les glossines.



Ceci apporterait quelques lumières sur le problème des réservoirs de virus et de la reviviscence de la maladie dans des foyers que l'on pensait avoir éradiqués.

Ce vieillissement des souches, diminution de virulence pour l'animal d'expérience et surtout moindre degré d'infectivité pour les glossines, indiquerait que le principal potentiel infectieux est constitué par les sujets en début d'infection, ou peut-être par les sujets au stade de portage, leur organisme n'ayant pas encore manifesté de réponse.

Ainsi serait souligné l'intérêt des techniques permettant un dépistage précoce éventuellement à un stade infraclinique (IgM, immunofluorescence ou même filtration sur DEAE cellulose, qui apporte la preuve parasitologique).

REMERCIEMENTS :

Nous tenons à remercier chaleureusement le Docteur CARRIE pour ses judicieux conseils et son aide précieuse.

BIBLIOGRAPHIE

COLLOMB (H.), GALLAIS (P.) et PLANQUES (L.) - 1956

- La trypanosomiase chez l'Africain transplanté.  
Bull. Soc. Path. Exo. 49, N° 5, 900-912.

GODFREY (D.G.) et LANHAM (S.M.) - 1971

- Diagnosis of Gambian trypanosomiasis in Man by Isolating Trypanosomes from Blood Passed Throug DEAE - Cellulose.  
Bull. O.M.S. 45, 13-19.

HOARE (C.A.) - 1949

- Handbook of Medical Protozoology  
ed Baillière, Tindall and Cox.

LAPEYSONNIE (L.) - 1969.

- Existence possible d'un réservoir de virus animal dans la trypanosomiase humaine africaine à T. gambiense. Réflexions épidémiologiques et Conséquences pratiques.  
Bull. Soc. Path. Exo. 62, 2, 335-343.

MOLYNEUX (D.M.) - 1972

- Isolation of Trypanosoma (Trypanozoon) brucei gambiense by the intra testicular inoculation technique and the biology of the parasites after isolation.  
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 66, n° 2, 338-339.

WATSON (H.J.C.) - 1962

- The domestic pig as reservoir of T. gambiense.  
CSIRT-CCTA, Conakry - 9ème Réunion 1962, 327.

-----