

Entretien de souches de *Trypanosoma brucei gambiense* en République Populaire du Congo. Étude de la virulence et relations avec l'épidémiologie (1)

Jean-Louis FRÉZIL*

Félix SAMBA**

Marie-France BOSSENO***

Michel MOLINIER****

RÉSUMÉ

Les auteurs étudient l'évolution de 16 souches de Trypanosoma gambiense, isolées en Afrique Centrale, sur 1 168 rongeurs de laboratoire.

Après avoir décrit les différents types d'infection rencontrés chez les rats blancs, ils démontrent que la virulence des souches diffère significativement en fonction de leur origine géographique.

MOTS-CLÉS : Trypanosomes - Rongeurs - Laboratoire - Infection - Virulence - Congo

SUMMARY

LABORATORY MAINTENANCE OF *TRYPANOSOMA BRUCEI GAMBIENSE* STRAINS IN CONGO PEOPLE'S REPUBLIC. STUDY IN VIRULENCE IN RELATION WITH EPIDEMIOLOGY.

The authors study the evolution of 16 strains of Trypanosoma brucei gambiense, isolated in Central Africa, on 1 168 laboratory rodents.

After some remarks on the different forms encountered in the evolution of parasitaemia, they note that the development of infection on the rat can be classified into 5 fundamental types. The extreme types are constituted by septicaemic forms killing the rat in a few days and chronic forms evolving to spontaneous cure of the animal.

The authors demonstrate, in addition, that virulence of strains vary significantly in relation with their geographical origin and is in close relation with epidemiological observations made in the field.

KEY WORDS : Trypanosomiasis - Rodents - Laboratory - Infection - Virulence - Congo.

(1) Cette étude bénéficie d'un appui financier du Programme spécial PNUD/Banque Mondiale/OMS pour la Recherche et la Formation concernant les Maladies Tropicales.

* Parasitologiste – Maître de Recherches à l'O.R.S.T.O.M., B.P. 181 Brazzaville, République Populaire du Congo.

** Agent technique de l'O.R.S.T.O.M.

*** Technicienne de l'O.R.S.T.O.M.

**** Chargé de Recherches de l'O.R.S.T.O.M.

1. INTRODUCTION

Depuis 1971, nous entretenons des souches de *Trypanosoma gambiense*, provenant de divers foyers de la République Populaire du Congo et du Cameroun, sur rongeurs de laboratoire (Frézil, 1973).

Cette opération présente une double finalité : d'une part l'étude des relations hôte-parasite et d'autre part l'élaboration d'antigène pour le dépistage immunologique de la maladie du sommeil. Il nous semble intéressant de présenter le résultat de nos observations sur les types d'infection rencontrés et sur le comportement des souches provenant de foyers différents.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les inoculations d'animaux de laboratoire ont été réalisées soit au cours de prospections « trypanosomiase », menées en collaboration avec le Service des Grandes Endémies, soit en poste fixe au Secteur N° 1 de Brazzaville.

La plupart des isoléments ont été faits sur rats blancs « Whistar », occasionnellement nous avons utilisé des cobayes ou des *Cricetomys*.

La méthodologie suivante a été utilisée :

- 1 à 2 ml de sang veineux sont prélevés au pli du coude du malade avec une seringue préalablement héparinée, puis injectés à l'animal par voie intrapéritonéale.

- Tous les 2 ou 3 jours, les trypanosomes sont comptés sur cellule de Thoma, des frottis sont faits extemporanément et colorés au Giemsa.

- Les passages de rongeur à rongeur sont effectués par voie intrapéritonéale avec du sang prélevé soit au bout de la queue, soit dans le sinus rétro-orbital, et dilué dans du sérum physiologique hépariné.

Nous ne comptons pas les trypanosomes au moment de l'inoculation car il a été démontré (Kligler *et al.*, 1927; Corson, 1934; Browaeys, 1943; et Baker, 1960), que si la période d'incubation diminue quand le nombre de parasites inoculés augmente, par contre ce nombre n'a aucune influence sur la durée de l'infection.

Dans quelques cas nous avons splénectomisé les rats, mais n'ayant pas constaté de variation notable dans le cours de la parasitémie, nous n'avons pas généralisé cette technique (cette observation rejoint celles de Schwetz (1934), Sandground (1947) et Wery *et al.* (1977) sur rongeurs, et celle de Davis (1931) sur chats).

Les rats trypanosomés sont élevés dans des cages individuelles pour éliminer l'effet de groupe qui, selon Ferguson *et al.* (1970), accroît la résistance des rongeurs à l'infection.

La température de la salle d'élevage se situe entre 22 et 24 °. Ce facteur est important puisque d'après Kolodny (1940) et Marinkelle *et al.* (1968) sur *T. cruzi* et Otieno (1972) sur *T. brucei*, une augmentation de température à plus de 35 ° se traduit par une meilleure défense de l'hôte.

Par contre un abaissement de température n'a pratiquement aucun effet (Kligler, 1927).

Enfin, tous nos rats reçoivent le même régime alimentaire essentiellement composé de manioc, noix de palme et papayes.

Ils pèsent environ 150 grammes au moment de l'inoculation. Le poids est également important puisque, d'une part, des passages répétés sur bébés rats accroissent la virulence (Sandground, 1947; Launoy, 1949) et que, d'autre part, on observe des variations de virulence en passant alternativement le parasite sur des rats jeunes et adultes (Aschcroft, 1959).

3. OBSERVATIONS

Depuis le début de nos travaux, 24 souches ont pu être isolées, malheureusement, 9 d'entre elles n'ont développé qu'une infection transitoire dans les premiers passages et ont été perdues. Cette difficulté d'isoler des souches de *T. gambiense* est d'ailleurs connue depuis longtemps (Laveran et Mesnil, 1912).

Quinze souches congolaises et une souche camerounaise (fournie par Carrié) ont donc pu être suivies, sur un total de 1 168 rats.

Etant donné la modestie de notre élevage, les 16 souches n'ont pu être entretenues simultanément, aussi, le nombre de passages est différent pour chacune d'entre elles et varie de 2 à 85.

Elles proviennent des foyers suivants, situés dans des faciès phytogéographiques différents (Frézil *et al.*, 1977) :

TABEAU I
Répartition et origine des souches

Type de foyer	Localité	Nombre de souches	Désignation des souches
Savane	Loudima	5	A, Y, R, N, P
	Kinzaba	3	BB, BO, MP
	Comba	1	PA
Fleuve	Cuvette	2	OK, MA
	Bounda	1	OB
	Couloir	1	M
	Longoli	1	MBO
	Pool	1	E
Cameroun	Bafia	1	MOS

ENTRETIEN DE SOUCHES DE *TRYPANOSOMA BRUCEI GAMBIENSE* AU CONGO

Le polymorphisme ne fait pas ici l'objet d'une étude détaillée, car de très nombreux travaux lui ont déjà été consacrés (Blacklock, 1913; Lavier, 1927, 1928, 1933; Ashcroft, 1957; Wijers, 1959).

Par contre la virulence a retenu toute notre attention. Cette virulence a été estimée par la durée de l'incubation, la courbe de la parasitémie et la longévité du rat.

3.1. Adaptation des souches au rat

Toutes les souches qui ont été entretenues sur rat sont devenues progressivement, au fil des passages, plus virulentes pour cet animal. Ce phénomène est classique (Laveran et Mesnil, 1912; Thomson et Robertson, 1926;

Lavier, 1928; Duke, 1935; Corson, 1936; Lapiere et Coste, 1963; Losos et Ikede, 1972), bien que certains auteurs aient aussi décrit un processus inverse (Laveran, 1916; Thomson et Robertson *loc. cit.*).

La durée de l'incubation diminue également en fonction de l'augmentation de la virulence.

A titre d'exemple, le tableau II montre l'évolution de la virulence des souches A, MA, BB et MOS au cours des 10 premiers passages.

Les rats d'inoculation (0) et du premier passage (1) ont une survie nettement plus élevée que les rats des passages suivants. Nous considérons que ces deux séries sont les plus représentatives de la virulence de la souche pour l'homme.

TABLEAU II

1 - SOUCHE A				3 - SOUCHE MA			
N° passage	Incubation moyenne en jours	Nombre moyen jours vécus	Pourcentage examens positifs	N° passage	Incubation moyenne en jours	Nombre moyen jours vécus	Pourcentage examens positifs
Inoc 0	18,7	283	15,8	Inoc 0	15	206	87,9
1	23,6	159,2	30,1	1	7	273	66,9
2	6,4	151,8	32,6	2	15,8	93,9	70,6
3	8,7	115,8	50	3	58	123,8	75,3
4	5	74,8	79,0	4	7,6	200,8	47,6
5	3,5	54,7	94,2	5	48	89,4	93,1
6	8,5	54,5	82,5	6	4,2	60	83,3
7	4	16,3	90,9	7	8	140,6	86,0
8	3,7	17,2	100	8	19,2	175	32,2
9	4	10	100	9	8	81,6	52,8
10	4	5	100	10	6,2	33	81,2

2 - SOUCHE BB				4 - SOUCHE MOS			
N° passage	Incubation moyenne en jours	Nombre moyen jours vécus	Pourcentage examens positifs	N° passage	Incubation moyenne en jours	Nombre moyen jours vécus	Pourcentage examens positifs
Inoc 0	46	349,5	34,1	1	29,5	77,5	38,0*
1	26,7	170,5	29,9	2	18,5	117	75,4
2	3,2	62,7	95,0	3	5,5	84,8	42,7
3	15,9	102,3	48,6	4	10	97,6	90,2
4	6,7	74,5	60,1	5	7,2	85,2	97,0
5	5,7	51,5	72,7	6	4,6	96,3	88,4
6	11	47,3	76,0	7	3,8	85,2	65,0
7	7	48,1	77,4	8	2,5	16,7	100
8	8,2	50,6	87,3	9	5	38,3	100
9	5	83,7	73,0	10	6,5	28,7	89,2
10	3	41,0	100				

(*) Inoculation à partir de MOS θ (Cameroun)

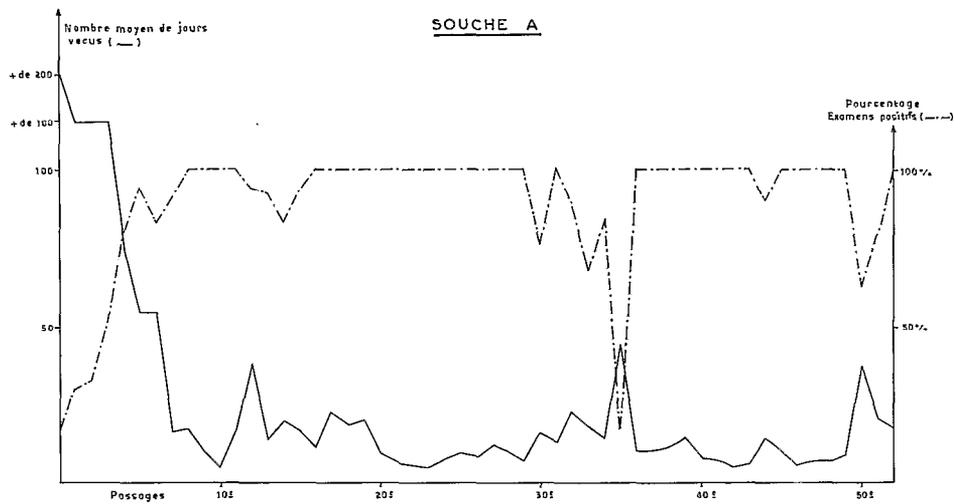


FIG. 1. — Courbe de survie moyenne des rats à la souche A

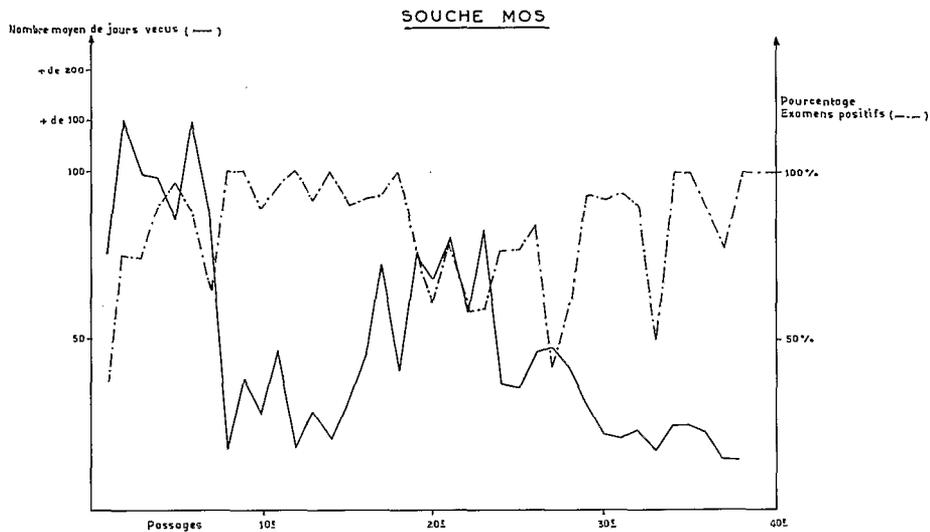


FIG. 2. — Courbe de survie moyenne des rats à la souche MOS

Ensuite le parasite s'adapte progressivement au rat et le tue de plus en plus vite. Les modalités de cette adaptation sont toutefois différentes pour chaque souche : ainsi, au 10^{ème} passage, la souche A tue les rats en 5 jours tandis que la souche BB ne les tue qu'en 41 jours.

La courbe de survie moyenne des rats aux souches A et MOS (fig. 1 & 2) montre que la virulence du parasite est instable et que la longévité des rats peut présenter des fluctuations importantes.

3.2. Variation de la morphologie du parasite

Plusieurs auteurs ont établi qu'il existe une relation étroite entre la virulence d'une souche et son degré de polymorphisme (Lavrier, 1928; Wijers, 1959; Hoare, 1972).

Par transmission mécanique directe, les formes trapues disparaissent progressivement tandis que la virulence du parasite augmente. Cependant, Lavrier (1933) observe

encore des formes trapues sur des souches entretenues pendant 30 ans sur souris.

Il est également admis que les souches devenues depuis longtemps monomorphes ne sont plus infectantes pour la glossine, ni même pour l'homme (Fairbairn, 1956; Hoare, 1972).

Toutefois, si cette virulence pour la glossine se perd assez rapidement, celle pour l'homme peut persister longtemps. En effet, Duke (1935) décrit une souche encore infectante pour l'homme 15 ans après son isolement et entretien sur rongeur.

Au cours des passages progressifs, nous avons pu constater, effectivement, une diminution du pourcentage des formes trapues. Toutefois, elles sont encore présentes au 82^e passage.

Le pourcentage de ces formes trapues est d'ailleurs très modeste (6 % dans le meilleur des cas).

Les formes nucléopostérieures sont en général assez rares et ne représentent, au maximum, que 1 pour cent des parasites.

Le plus souvent donc, les formes grêles et intermédiaires composent la totalité des parasites observés.

Dans les cas de multiplication intense du parasite, nous avons pu observer des formes multinucléées, énormes, pouvant comporter jusqu'à 8 kinetoplastes, flagelles et noyaux.

La présence des grains de volutine est pratiquement constante, mais ils sont moins fréquents dans les premiers passages.

3.3. Les types d'infection

3.3.1. DESCRIPTION

En étudiant le cours de la maladie sur chaque rat, nous avons pu constater que l'évolution de la parasitémie, qui semble à première vue assez anarchique, peut en fait être classée en un certain nombre de types fondamentaux qui se retrouvent constamment.

Wery *et al.* (1971, 1977) avaient remarqué cette particularité sur des souches du Zaïre et dégagé 3 types d'évolution chez le rat.

Nos observations nous ont permis de retrouver ces 3 types; cependant nous avons également remarqué des modalités particulières d'évolution qui nous ont conduit à élargir les définitions et admettre 2 types supplémentaires :

1^{er} type (fig. 3)

Les parasites apparaissent rapidement dans le sang, moins de 4 jours après l'inoculation. La parasitémie augmente de façon constante jusqu'à ce que l'animal meure d'une infection massive avant le 20^e jour.

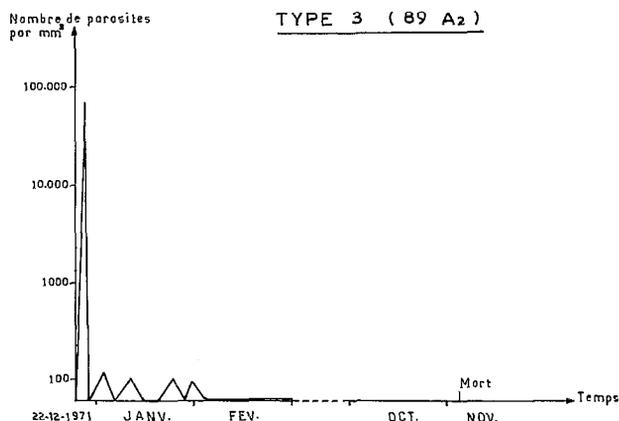
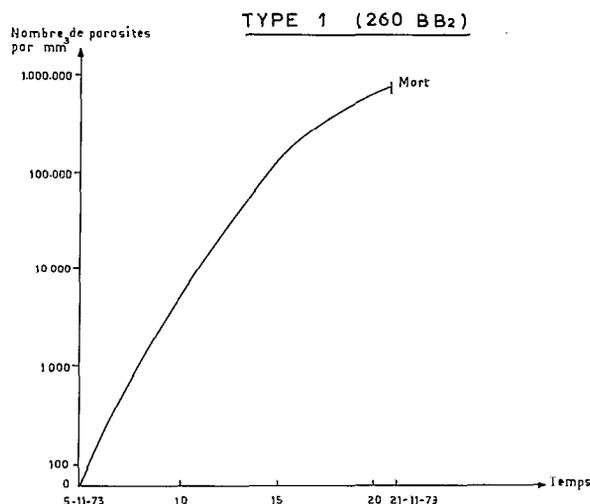


FIG. 3. — 1^{er} et 3^e types d'infection des rats

2^e type (fig. 4)

Les animaux qui résistent à la première explosion de la parasitémie développent une infection chronique. Les parasites peuvent disparaître presque complètement du sang et ensuite des pics secondaires de parasitémie sont observés périodiquement. L'animal peut mourir au cours d'un de ces pics entre le 2^e et le 12^e mois après l'inoculation.

3^e type (fig. 3)

Chez quelques animaux, cependant, on ne trouve plus de parasite dans le sang après la fin du 2^e ou 3^e pic de la parasitémie (moins de 3 mois après l'inoculation). Des examens répétés et soigneux ne montrent pas un seul

TYPE 2 (92 Y₃)

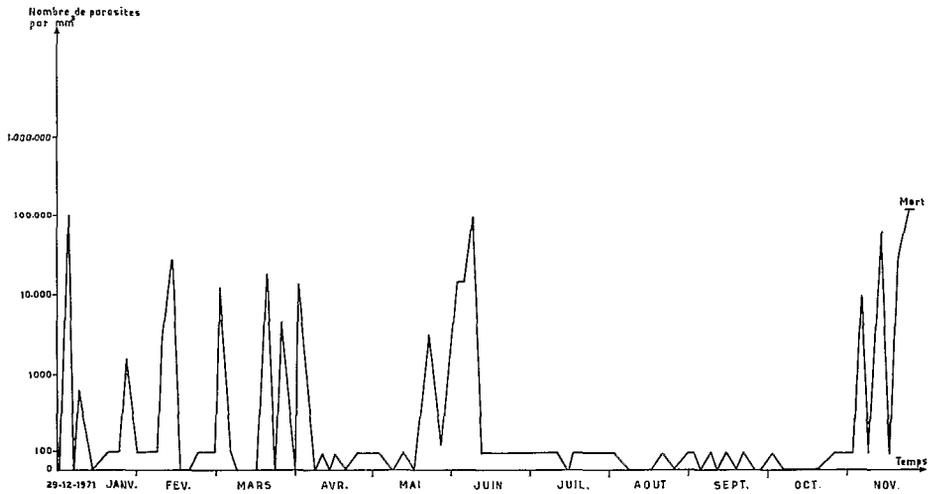
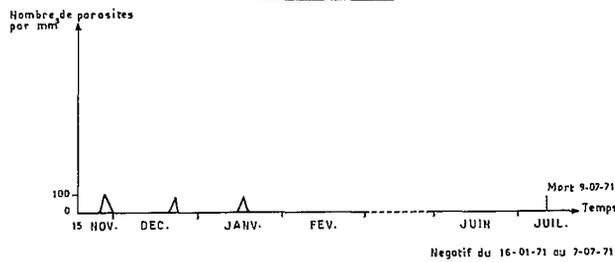


FIG. 4. - 2^e type d'infection des rats

TYPE 4 (17 P)



trypanosone. Aucun symptôme n'est visible pendant cette période qui peut durer plus de 15 mois. Puis des lésions du système nerveux apparaissent et l'animal meurt rapidement sans montrer de parasites dans le sang. Ce type est à rapprocher de la « souche neurotrope » décrite par Roubaud *et al.* (1944).

TYPE 5 (51 N₄)

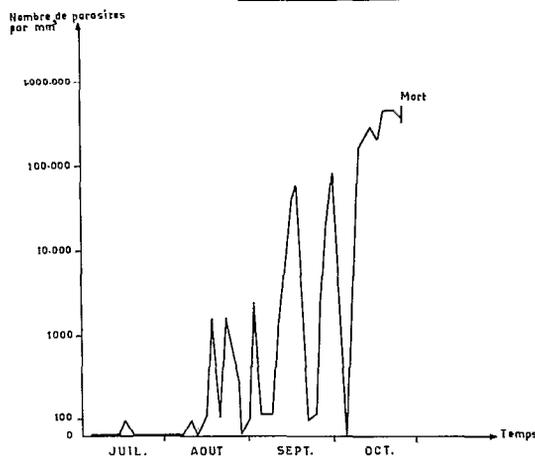


FIG. 5. - 4^e et 5^e types d'infection des rats.

TABLEAU III
Répartition des types d'infection

Passage	1 ^{er} type	2 ^e type	3 ^e type	4 ^e type	5 ^e type
0		9	1	17	3
1	2	11	3	15	9
2	7	9	1	3	10
3	5	12		3	5
4	7	6			7
5	3	5			4
6		4			4
7	2	1			
8	3	1			
9	2				
10	1				
11	2	1			
12	1	1			
13	5				
14	5	1			
15	7	2			
Total	52	63	5	38	42
Pourcentage	26 %	31,5 %	2,5 %	19 %	21 %

ENTRETIEN DE SOUCHES DE *TRYPANOSOMA BRUCEI GAMBIENSE* AU CONGO

4^e type (fig. 5)

Après une incubation généralement longue, la maladie prend dès le départ une allure chronique : le premier pic est discret (moins de 1 000 T/mm³) et de courte durée (1 à 3 jours).

Les pics suivants sont de plus en plus espacés et également peu importants. Quelquefois on observe une seule apparition du parasite.

L'animal semble guérir spontanément.

5^e type (fig. 5)

Après une apparition discrète des trypanosomes, on observe des pics de plus en plus grands séparés de phases négatives ou pauciparasitées. Le dernier pic tue l'animal.

3.3.2. RÉPARTITION

Le tableau III ci-dessous présente la répartition des types d'infection sur les 15 premiers passages et pour un total de 200 rats.

TABLEAU IV
Virulence des souches selon l'origine géographique
I - *Foyers de savane*

Région	Niari								
	Souche	A	Y	R	N	P	BB	BO	MP
Origine	LOUDIMA	LOUDIMA	LOUDIMA	LOUDIMA	LOUDIMA	KINZABA	KINZABA	KINZABA	COMBA
Durée de l'entretien *	2 685	718	331	449	371	1 872	674	769	881
Nombre de passages	85	7	5	6	3	22	4	6	5
Nombre total de rats inoculés	477	28	23	17	7	150	17	34	22
Nombre moyen de rats/passage	5,6	4	4,6	2,8	2,3	6,8	4,2	5,6	4,4
Durée moyenne de passages*	31,5	102,5	66,2	74,8	123,6	85,0	168,5	128,1	176,2
Total rats inoculés aux 2 premiers passages (0-1)	9	5	9	9	5	10	5	9	7
Incubation moyenne aux 2 premiers passages (0-1)	21,1	20,5	16,2	24,9	11	36,3	22	17,4	37
Survie moyenne aux 2 premiers passages (0-1)	221,1	133,8	133,5	201,8	258,5	260	339,5	250,3	257,9
Survie moyenne de tous les passages = x		85,6	94,9	121,6	209,3	90,9	247,6	155,0	231,1
Survie moyenne de A pendant le même nombre de passages = a		127,6	156,9	139,8	198,0	51,4	177,4	139,8	156,9
Nombre de rats de A inoculés pendant les mêmes passages		41	31	35	16	95	24	35	31
$\frac{x}{a}$		0,670	0,604	0,869	1,057	1,768	1,395	1,108	1,472

(*) Toutes les durées sont exprimées en jours.

TABLEAU IV
Virulence des souches selon l'origine géographique
2 - Foyers du fleuve Congo et Cameroun

Région	CUVETTE			COULOIR		POOL	CAMEROUN
Souche	OK	MA	OB	M	MBO	E	MOS
Origine	SANGHA	SANGHA	BOUNDA	NGABE	LONGOLI	YORO	BAFIA
Durée de l'entretien*	1 441	1 501	1 358	364	316	189	1 407
Nombre de passages	11	14	7	7	2	3	38
Nombre total de rats inoculés	62	83	37	16	6	12	177
Nombre moyen rats/passage	5,6	5,9	5,2	2,2	3	4	4,6
Durée moyenne des passages*	131	107,2	194	52	158	63	37,0
Total rats inoculés aux 2 premiers passages (0-1)	7	8	7	4	6	9	2
Incubation moyenne aux 2 premiers passages(0-1)	21,7	11	39,7	29,3	52,3	12	29,5
Survie moyenne aux 2 premiers passages	163,6	239	184,9	83,1	210,2	213,7	77,5
Survie moyenne de tous les passages = x	168	115,4	159,3	50,6	210,2	253,8	47,8
Survie moyenne de A pendant le même nombre de passages = a	85,6	72,1	127,6	127,6	221,1	198	35,2
Nombre de rats de A inoculés pendant les mêmes passages	53	63	41	41	9	16	172
$\frac{x}{a}$	1,962	1,600	1,248	0,396	0,950	1,281	1,357

(*) Toutes les durées sont exprimées en jours.

Hormis le 3^e type qui est assez rare (2,5 % des cas), la répartition dans les autres types est relativement homogène.

Les formes les plus agressives du 1^{er} et 2^e type sont cependant les plus fréquentes (57,5 % des cas). Elles s'observent tout au long des différents passages mais le type 1, à caractère septicémique, prédomine à partir du 7^e.

Les évolutions de nature chronique (3^e, 4^e et 5^e type) se rencontrent surtout dans les premiers passages, tandis que la souche n'est pas encore adaptée au rat.

Les formes les moins pathogènes du 4^e type, où la parasitémie reste toujours très faible, se manifestent principalement dans les deux premiers passages : 20 sur 32

des cas observés proviennent du seul foyer de Kinzaba, dont les souches apparaissent déjà moins virulentes que celles des autres foyers.

3.4. Étude comparative de la virulence des souches en fonction de leur origine géographique

3.4.1. ANALYSE DES RÉSULTATS BRUTS

Le tableau IV présente les résultats généraux de notre étude sur la virulence des souches.

La durée de l'entretien est variable mais va jusqu'à 2 685 jours pour la souche A qui a été suivie sur 85 passages.

TABLEAU V
Virulence des souches selon les foyers

Région	Niari		Fleuve			Cameroun
	Loudima	Kinzaba + Comba	Cuvette	Couloir	Pool	
Foyers			Sangha + Bounda	Ngabe + Longoti	Yoro	Bafia
Nombre de souches	5	4	3	2	1	1
Incubation moyenne (0-1)	18,7j	28,1	24,1	41,0	12	29,5
Survie moyenne (0-1)	189,7j	276,9	195,8	146,6	213,7	77,5
Virulence par rapport à la souche A = $\frac{x}{a}$	0,822	1,378	1,551	0,747	1,281	1,357

Pour chaque passage, le nombre de rats inoculés en moyenne varie de 3 à 6,8.

Comme nous l'avons dit, la longévité des rats au cours des 2 premiers passages est, à notre sens, la plus représentative de la virulence de la souche pour l'homme.

La survie moyenne des rats pour ces deux passages est variable d'une souche à l'autre, toutefois, elle semble se situer à des niveaux différents pour chaque foyer.

Nous avons donc regroupé nos informations dans le tableau V qui donne une évaluation moyenne pour chaque ensemble de souches de la même origine géographique.

Il apparaît nettement que les souches du Couloir sont plus virulentes que celles de la Sangha, et que les souches de Loudima sont plus virulentes que celles de Kinzaba. Entre les extrêmes, Couloir et Kinzaba, la longévité des rats varie pratiquement du simple au double.

La virulence de la souche camerounaise est difficile à évaluer à ce niveau car les éléments du premier passage nous manquent.

Par contre l'incubation ne semble pas avoir de relation avec la longévité des rats, et donc avec la virulence, mais cela est probablement dû à la richesse variable de l'inoculum (Baker, 1960).

Bien qu'une souche ayant subi un certain nombre de passages sur rongeurs ait probablement perdu l'essentiel de ses caractéristiques originelles, il nous a semblé intéressant de voir dans quelle mesure la virulence du départ se conservait tout au long des passages. Pour cela nous avons calculé la survie moyenne de tous les rats de chaque souche (x).

Cette valeur a été ensuite comparée à la valeur obtenue pour un même nombre de passages de la souche A (a).

Le rapport x/a permet donc d'évaluer la virulence de chaque souche par rapport à celle de A : lorsqu'il est inférieur à 1 la souche est plus virulente que A, lorsqu'il est supérieur à 1 la souche est moins virulente que A.

La virulence originelle des souches semble plus ou moins se conserver tout au long des passages puisque, ici encore, les souches de Loudima sont plus virulentes que celles de Kinzaba et les souches du Couloir plus virulentes que celles de la Cuvette.

Par contre si le Couloir détient toujours le record de virulence, c'est la zone de la Cuvette qui héberge les souches les moins pathogènes et non plus Kinzaba.

La souche Yoro a un statut à part puisqu'elle concerne un cas isolé dont l'origine est incertaine.

La virulence de la souche camerounaise est proche de celles de Kinzaba, qui figurent parmi les moins pathogènes.

3.4.2. ANALYSE STATISTIQUE

Les différents résultats obtenus montrent, qu'a priori, il existe une relation directe entre la virulence, représentée par la longévité des rats, et l'origine géographique des souches. Cependant, on est amené à se demander si les différences observées entre les diverses moyennes sont significatives, et traduisent une influence réelle du facteur géographique, ou bien si elles peuvent s'expliquer uniquement par les fluctuations d'échantillonnage liées au caractère limité des effectifs étudiés.

Il existe plusieurs méthodes statistiques de comparaison des moyennes qui peuvent, sans apporter une certitude absolue, indiquer si on peut admettre, et avec quel degré de sécurité, l'hypothèse que les souches montrent un comportement différent.

Dans un premier temps nous avons testé l'homogénéité de l'ensemble des quatre foyers (Loudina, Kinzaba, Cuvette, Couloir) en faisant la comparaison simultanée des différentes moyennes par la méthode dite de « l'analyse des variances ». Ensuite nous avons cherché à savoir si la différence observée entre les moyennes de chaque foyer, pris deux à deux, est significative.

Comme critère de virulence, nous avons retenu la durée moyenne de survie de tous les rats au cours de chaque passage, pour une souche donnée, en distinguant quatre groupes correspondant aux quatre foyers étudiés.

3.4.2.1. Analyse de la variance – Influence du site

Le test effectué sur des deux premiers passages montre que la probabilité pour que la différence entre les moyennes soit purement fortuite est de 9 % : il n'est pas possible d'affirmer, à ce niveau, qu'il y a une différence significative entre les moyennes.

En ajoutant le 3^e passage, la probabilité tombe à 1,5 % : donc, avec un coefficient de sécurité de 98,5 %, on peut admettre que la virulence dépend effectivement de l'origine des souches.

En prenant les 4 et 5 premiers passages, ce seuil de signification tombe à 0,7 % puis à 0,6 % pour les 6 premiers passages.

Ce test montre que la différence observée entre les moyennes à moins d'une chance sur cent de se produire par suite des fluctuations fortuites dans une population unique. On peut donc en conclure que la longévité des rats inoculés, et donc la virulence du parasite, dépend effectivement de l'origine des souches.

3.4.2.2. Comparaison de la virulence dans chaque foyer

La comparaison des moyennes de survie dans chaque foyer pris séparément a été faite en étudiant la distribution des différences de ces moyennes dans le cas de petits échantillons (loi de Student).

Les résultats obtenus, lorsqu'on compare les moyennes des 4 premiers passages confirment les hypothèses déjà avancées : les souches de Kinzaba sont **beaucoup** moins virulentes que celles de Loudima et les souches de la Cuvette moins virulentes que celles du Couloir, ces dernières étant les plus virulentes des quatre.

Par contre on ne peut déceler aucune différence significative entre les souches de Kinzaba et celles de la Cuvette pour lesquelles la durée moyenne de survie des rats inoculés tend à prendre la même valeur au fur et à mesure qu'on augmente la taille de l'échantillon.

3.4.3. DISCUSSION

Au cours de la prospection de Kinzaba nous avons remarqué (Frézil *et al.*, 1973) à la suite de Rey *et al.* (1972), que ce foyer présente un type inhabituel. En effet, les affections semblent bien et longuement supportées ; les 2^e périodes sont certes fréquentes, mais les liquides céphalorachidiens en sont peu altérés. Les signes évocateurs sont rares chez les malades dépités.

Deux enquêtes récentes dans la zone du Couloir (Frézil *et al.*, 1979) nous ont montré le caractère épidémique aigu de ce foyer. En effet, la maladie atteint en moyenne 10 % de la population avec des pics de 45 % dans certaines agglomérations. Or, il est depuis longtemps connu que des passages rapides augmentent la virulence du parasite.

Il existe donc une relation certaine entre la virulence du parasite observée chez le rat et celle observée chez l'homme.

A l'appui de cette affirmation, vient à propos l'observation de Lapiere *et al.* (1963) sur le comportement de la souche Feo sur rat : il est fondamentalement du 4^e type, et donc très peu pathogène pour cet animal.

CONCLUSION

Les résultats de notre étude démontrent que, en République Populaire du Congo, il existe 5 types différents d'évolution de la parasitémie chez les rongeurs de laboratoire et que la virulence des souches de *Trypanosoma gambiense* varie selon leur origine géographique.

Pour expliquer l'origine de l'épidémie actuelle, on pourrait admettre que, au Congo, c'est la même souche de départ qui s'est répandue et qui a changé ses caractères de virulence en rencontrant des populations de sensibilité différente.

Toutefois, l'explosion simultanée de la trypanosomiase dans tous les pays d'Afrique centrale et occidentale fait plutôt penser qu'un ensemble de souches, à caractères différents, s'est développé brutalement dans leur biotope d'origine.

Une étude sur le typage isoenzymatique des trypanosomes est déjà en cours dans notre laboratoire pour tenter d'élucider ce problème.

Manuscrit reçu au Service des Publications de l'O.R.S.T.O.M. le 4 juillet 1979.

BIBLIOGRAPHIE

- ASHCROFT (M.T.), 1957. — The polymorphism of *Trypanosoma brucei* and *T. rhodesiense*, its Relation to Relapses and Remissions of Infections in White rats and the effect of Cortisone. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 51, (3) : 301-312.
- ASHCROFT (M.T.), 1959. — The relative virulence of *Trypanosoma brucei* to young and to adult white rat. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 53, (1) : 89-92.
- BAKER (J.R.), 1960. — The influence of the number of trypanosomes inoculated on the prepatent period of the subsequent trypanosomiasis in laboratory. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 54, (1) : 71-74.
- BLACKLOCK (D.B.), 1913. — A study of the posterior nuclear forms of *Trypanosoma rhodesiense* (Stephens and Fantham) in rats. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 7 : 101.
- BROWAEYS (J.), 1943. — Inoculation d'un ou de plusieurs trypanosomes à la souris. *Bull. Soc. Path. ex.*, 36 : 147.
- CORSON (J.F.), 1934. — The influence of the dose of trypanosomes and of the body weight in experimental infections of white rats with *Trypanosoma rhodesiense*. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 28 : 525. (in *Trop. Dis. Bull.*, 1935, 32, (5) : 353.)
- CORSON (J.F.), 1936. — The influence of repeated transmission in animals on the virulence of *Trypanosoma rhodesiense* and *Trypanosoma brucei*. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 30 : 211.
- DAVIS (L.J.), 1931. — Experimental feline trypanosomiasis with especial reference to the effect of splenectomy. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 25, (1) : 79-90.
- DUKE (H.L.), 1935. — Old « laboratory » strains of the polymorphic trypanosomes. *Lancet*, 21 : 665-667.
- FAIRBAIRN (H.), 1956. — The infectivity to man of syringe — passaged strains of *Trypanosoma rhodesiense* and *Trypanosoma gambiense*. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 50, (2) : 167-171.
- FERGUSON (W.), HERBERT (W.J.) et Mc NEILLAGE (C.J.C.), 1970. — Infectivity and virulence of *Trypanosoma (Trypanozoon) brucei* to mice. 3 — Effects of social stress. *Trop Anim. Hlth. Prod.*, 2, (2) : 59-64.
- FRÉZIL (J.L.), 1973. — Isolement de souches de *Trypanosoma brucei gambiense* en République Populaire du Congo. Conséquences pratiques et considérations épidémiologiques. *Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XI, n° 3 : 195-198.
- FRÉZIL (J.L.), CARRIÉ (J.) et RIO (F.), 1974. — Application et valeur de la technique d'immunofluorescence indirecte au dépistage et à la surveillance épidémiologique de la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense*. *Cahiers ORSTOM. Sér. Ent. méd. et Parasitol.*, vol. XII, n° 2 : 111-126.
- FRÉZIL (J.L.), LANCEN (J.) et CARNEVALE (P.), 1977. — Quelques aspects de l'épidémiologie de la Trypanosomiase humaine en République Populaire du Congo. OUA/ISCTRC — Banjul. (Compte rendu sous presse).
- FRÉZIL (J.L.), EOZAN (J.P.), COULM (J.), MOLOUBA (R.) et MALONGA (J.R.), 1979. — Epidémiologie de la trypanosomiase humaine en République Populaire du Congo. I. — Le foyer du Couloir. *Cahiers ORSTOM. Sér. Ent. méd. et Parasitol.* vol. XVII, n° 3, (sous presse).
- HOARE (C.A.), 1972. — The trypanosomes of mammals. ed : Blackwell Scientific Publications (Oxford and Edimburg).
- KLIGLER (I.J.), 1927. — Relation of temperature to susceptibility of host to disease. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 25, (1) : 20-21.
- KLIGLER (I.J.) et RABINOVITCH (G.), 1927. — Susceptibility and resistance to trypanosome infections. III. — The relation of dosage to the course of infection. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 21 : 375. (In *Trop. Dis. Bull.*, 1928, 25, (5) : 351.)
- KOLODNY (M.H.), 1940. — The effet of environmental temperature upon experimental trypanosomiasis (*T. cruzi*) of rats. *Amer. J. Hygiene*, 32 : 21-23.
- LAPIERRE (J.) et COSTE (M.), 1963. — Trypanosomose expérimentale à *Trypanosoma gambiense* (FEO). Manifestations neurotropes chez le cobaye. *Ann. Soc. Belge. Méd. trop.*, 5 : 801-808.
- LAUNOY (L.), 1949. — Précisions sur la virulence actuelle de *T. gambiense* (souche Yaoundé) pour le rat. *Bull. Soc. Path. ex.*, 42, (5-6) : 243-247.
- LAVERAN (A.), 1916. — Diminution de virulence chez des trypanosomes ayant subi un grand nombre de passages par animaux de même espèce. *Bull. Soc. Path. ex.*, 9 : 109-117.
- LAVERAN (A.) et MESNIL (F.), 1912. — Trypanosomes et Trypanosomiasis. Ed. Masson et Cie, Paris.
- LAVIER (G.), 1927. — The posterior nuclear form. Interim Report of the League of Nations International Commission on Human Trypanosomiasis. p. 115.
- LAVIER (G.), 1928. — Rôle uniformisant de l'hôte vertébré dans la morphologie des trypanosomes du groupe *brucei*. *C.R. Soc. Biol.*, 98, (7) : 520-524.
- LAVIER (G.), 1933. — Sur le polymorphisme réel de certains trypanosomes réputés monomorphes. *Ann. Para. hum. comp.*, 11, (4) : 280-286.
- LOSOS (G.J.) et IKEDE (B.O.), 1972. — Review of pathology of Disease in domestic and laboratory animals caused by *Trypanosoma congolense*, *T. vivax*, *T. brucei*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. *Veterinary Pathology*, Suppl. ad Vol. 9 : 1-71.
- MARINKELLE (C.J.) et RODRIGUEZ (E.), 1968. — The influence of environmental temperature on the pathogenicity of *Trypanosoma cruzi* in mice. *Exp. Parasitol.*, 23 : 260-263.
- OTIENO (L.H.), 1972. — Influence of ambient temperature on the course of experimental trypanosomiasis in mice. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 66, (1) : 15-24.
- REY (J.L.) et PASQUIER (G.), 1972. — Un nouveau foyer de Trypanosomiase humaine au Congo. Première réunion commune OCCGE-OCEAC, 1 : 519-524.
- ROUBAUD (E.), STEPHANOPOULO (G.J.) et DUVOLON (S.), 1944. — Étude chez le rat blanc d'une souche neurotrope de *Trypanosoma gambiense*. *Bull. Soc. Path. ex.*, (9-10) : 292-296.
- SANDGROUND (J.H.), 1947. — Experimental studies of an old strain of *Trypanosoma gambiense*. I. — The enhancement of its virulence and the relationship of this phenomenon to the species of polymorphic Trypanosomes of Africa. *Ann. trop. Méd. Parasit.*, 41, (3-4) : 293-305.
- SCHWETZ (J.), 1934. — L'influence de la splénectomie sur l'évolution des Trypanosomes pathogènes (*T. gambiense* et *T. congolense*) chez les rats et les souris. *Bull. Soc. Path. ex.*, 27, (3) : 253-260.

- THOMPSON (J.G.) et ROBERTSON (A.), 1926. – Variations in the virulence and in the morphology of certain laboratory strains of *Trypanosoma gambiense* and *Trypanosoma rhodesiense* isolated from human cases. *J. trop. Med. Hyg.*, 29, (24) : 403-410.
- WERY (M.) et KAYEMBE (D.), 1971. – Morphology of the parasites and pathological changes in the brain of albino rats infected with *Trypanosoma gambiense*. *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 55, (3) : 409-410.
- WERY (M.), WEYN (J.), NGIMBI NKUKU MPELA et COLAERT (J.), 1977. – Isolement de souches de *T. gambiense* au Zaïre et leur adaptation aux animaux de laboratoire. *Ann. Soc. Belge. Méd. trop.*, 57, (4-5) : 425-437.
- WIJERS (D.J.B.), 1959. – Polymorphism in *Trypanosoma gambiense* and *Trypanosoma rhodesiense* and the significance of intermediate forms. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 53, (1) : 59-68.