

Mission Entomologique O.R.S.T.O.M.

auprès de l'O.C.C.G.E.

N° 3 8/69-O.R.S.T.O.M./Bobo

du 3.2.1969.

Rapport sur une Mission effectuée à l'Ecole de Médecine  
Tropicale de Liverpool, à l'Ecole d'Hygiène et de  
Médecine Tropicale de Londres, à l'Institut National  
pour la Recherche Médicale de Londres  
(26 février au 12 mars 1968)

par

J. BRENGUES

Chargé de Recherches de l'ORSTOM

## 1. Introduction.

Travaillant sur la transmission des filaires depuis 1964, ce stage en Angleterre m'a notamment permis de rencontrer des chercheurs britanniques qui s'intéressent aux mêmes problèmes et qui, pour la plupart, ont aussi travaillé sur le terrain en zone tropicale d'Afrique ou d'Asie. En particulier, j'ai pu rendre visite au Professeur Nelson, titulaire de la chaire d'helminthologie de l'Ecole d'Hygiène et de Médecine Tropicale de Londres. Je corresponds avec le Professeur Nelson depuis plusieurs années pour la détermination des larves infestantes de filaires prélevées chez les moustiques, et il m'a été très utile de le rencontrer pour la poursuite de notre travail commun.

Lors de mon passage à Liverpool et à Londres j'ai aussi rendu visite à d'autres chercheurs s'intéressant aux maladies tropicales et aux insectes vecteurs. Dans tous les cas, les discussions que j'ai pu avoir m'ont été très profitables.

25 MARS 1969

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n°/3131 ex 1

Dans la suite de cet exposé, je vais donner quelques détails sur les recherches effectuées dans les différents laboratoires que j'ai pu visiter.

## 2. Visite à l'Ecole de médecine tropicale de Liverpool.

Cette Ecole comporte 3 départements :

- Médecine tropicale : Professeur B.G. Maegraith, doyen de l'Ecole,
- Hygiène tropicale : Professeur T. Wilson,
- Parasitologie : Professeur W. Peters.

J'ai pu rencontrer plusieurs chercheurs des Départements d'Hygiène tropicale et de Parasitologie.

### 2.1. Département d'Hygiène tropicale.

Le Professeur Wilson, après avoir travaillé pendant de nombreuses années sur les filarioses à Wuchereria bancrofti et à Brugia malayi, dans le Sud-Est Asiatique et notamment en Malaisie, est actuellement Professeur d'Hygiène tropicale de l'Ecole. Il s'intéresse particulièrement aux méthodes immunologiques (tests cutanés) pour le dépistage des Filarioses. A la demande de l'O.M.S., il doit essayer, dans la mesure où ces tests sont valables, de standardiser les méthodes en fonction des premiers résultats obtenus dans différentes régions tropicales. Dans la région de Bobo-Dioulasso (Haute-Volta) nous avons testé deux antigènes filariens et j'ai pu faire part au Professeur Wilson des résultats que nous avons obtenus.

## 2.2. Département de Parasitologie.

Ce Service, dirigé par le Professeur Peters, comprend 3 laboratoires largement autonomes. Ce sont les laboratoires de Parasitologie, Entomologie et Parasitologie Vétérinaire.

### 2.2.1. Laboratoire de Parasitologie.

Ce laboratoire est dirigé par le Professeur Peters assisté du Docteur Crewe. Le Professeur Peters a remplacé le Professeur Kershaw fin 1966. Un nouveau programme de recherche a été mis sur pied, il concerne essentiellement l'étude de la résistance aux médicaments, plus particulièrement à la chloroquine, dans le Paludisme. Dans la plupart des études faites sur ce sujet jusqu'à maintenant, les auteurs utilisaient des souches de Plasmodium berghei maintenues par des passages à la seringue. Pour s'approcher le plus possible des conditions naturelles, le Professeur Peters reproduit le cycle complet, notamment pour P.berghei et P.chabaudi, par passage sur un insecte vecteur: Anopheles stephensi.

Différentes souches des Plasmodium suivants, sont actuellement maintenues au laboratoire, soit par passage sur animal, soit conservées au congélateur: P.berghei berghei, P.berghei yoelii, P.chabaudi, P.vinckei, P.gallinaceum, P.knowlesi.

Des recherches sont entreprises par le Professeur Peters, en collaboration avec Mr. Howells et Mrs. Thomas, en vue d'étudier, à l'aide du microscope électronique, les modifications de l'ultrastructure des souches résistantes de Plasmodium.

Dans ce même laboratoire, travaillent aussi Monsieur Petana qui s'intéresse particulièrement à la maladie de Chagas. Il a travaillé récemment en Honduras Britannique où il a notamment découvert un nouveau trypanosome voisin de T. cruzi. Le Docteur Crewe poursuit des recherches sur le kyste hydatique et la cysticercose. Mr. Howell collabore aussi à un programme de recherches sur l'action de l'Ambilhar (produit de Ciba) sur la maturation et l'éclosion des oeufs de nematodes intestinaux ; en effet, on a pu observer des oeufs de nématodes anormaux chez des malades traités à l'Ambilhar pour une bilharziose.

#### 2.2.2. Laboratoire d'Entomologie.

Ce laboratoire est dirigé par le Docteur Macdonald avec qui collaborent notamment, les Docteurs Townson et Supat Sucharit, Messieurs Obiamiwe et Birtwistle.

Le programme de ce laboratoire est plus particulièrement axé sur l'étude expérimentale de la transmission des filarioses par les Culicidae et plus spécialement de Brugia pahangi (maintenu au laboratoire sur chats) par Aedes aegypti.

Ces dernières années (Macdonald, 1962 a et b, 1963 a et b, 1965, 1967, Macdonald et al, 1965 a et b) le Docteur W.W. Macdonald a notamment pu isoler des populations d'Ae. aegypti sensibles ou résistantes à l'infestation filarienne (infestation par Brugia pahangi, B. malayi, Wuchereria bancrofti). Ces populations sont génétiquement différentes et Macdonald a pu mettre en évidence un gène de sensibilité récessif appelé  $f^m$  (= filarial susceptibility).

Actuellement le Docteur Macdonald participe à un projet O.M.S. à Bangkok (Thaïlande) qui a pour but : la recherche des espèces d'Aedes vectrices d'une fièvre hémorragique épidémique d'origine virale (virus Chikungunya). Il participe aussi au projet O.M.S. de Rangoon en appliquant une méthode d'estimation de la taille des populations de C.p.fatigans.

Le Docteur Townson vient récemment de soutenir une thèse sur l'étude du vol chez Aedes aegypti et l'influence sur ce vol de l'infestation par Brugia pahangi (Townson, 1967 a et b). Il a étudié le vol libre d'Ae.aegypti à l'aide de films et le vol d'individus attachés à des appareils appelés "flight mills" du type de celui d'Hocking (1953). Il a notamment étudié la fréquence et l'amplitude du battement alaire. Il ressort de ce travail que l'infestation filarienne affecte considérablement la puissance de vol des moustiques. L'auteur a pu distinguer des individus "non fliers" chez qui l'intensité de l'infestation filarienne est plus élevée que chez les individus "fliers". D'autre part, la fréquence du battement alaire, qui conditionne la vitesse de l'insecte, décline beaucoup plus rapidement chez les insectes infestés. En annexe à ce travail, l'auteur présente une étude sur l'ultrastructure des muscles alaires d'Aedes aegypti et sur les modifications de celle-ci après infestation de l'insecte par Brugia pahangi. L'examen au microscope électronique de coupes de fibres musculaires a montré que l'infestation filarienne détermine une vacuolisation des sarcosomes (mitochondries) alors que les myofibrilles ne sont pas touchées. Ce parasitisme intracellulaire provoque donc une modification de la structure des mitochondries qui peut être due soit à une carence métabolique dont le parasite serait responsable, soit à une action toxique du parasite et peut-être aux deux. L'auteur compare ses observations aux modifications de l'ultrastructure des erythrocytes observées avec l'infection plasmodiale.

Le Docteur Townson vient aussi d'étudier la mortalité d'Aedes aegypti en fonction de l'âge. Chez les individus sains, il a pu constater que le logarithme de la mortalité croît linéairement en fonction de l'âge. En étudiant cette mortalité sur une population composée d'un mélange d'individus sensibles et résistants à l'infestation filarienne, nourris sur chat porteur de B. pahangi, il constata : une forte mortalité dans les premiers jours suivant le repas infestant, ensuite une mortalité comparable à celle des individus sains, enfin un nouvel accroissement marqué de la mortalité. D'après Townson, la forte mortalité des premiers jours affecterait essentiellement les individus résistants qui ne surviendraient pas au passage des microfilaries de l'estomac vers le thorax, le deuxième accroissement de la mortalité correspondrait à la mortalité des individus sensibles au moment où les filaires évoluent dans les muscles thoraciques. (Cette étude est sous presse et doit prochainement paraître dans le Journal of Experimental Biology).

Le Docteur Townson essaye actuellement de mettre au point des techniques électrophorétiques pour l'isolement des espèces et souches d'insectes vecteurs, notamment de Culicidae.

Le Docteur Supat Sucharit poursuit actuellement des essais d'infestation expérimentale de rats, cobayes, lapins et hamsters par Brugia pahangi dont un des hôtes normaux est le chat. Le but pratique de ce travail est de pouvoir maintenir au laboratoire des souches de filaire sur des animaux qui s'élèvent et se conservent plus facilement. Jusqu'à présent, les résultats furent négatifs avec les lapins et les cobayes, mais environ 10% des rats et hamsters infestés ont présenté une microfilariémie 3 à 4 mois après l'infestation alors qu'elle apparaît normalement 30 à 45 jours après l'infestation chez l'hôte normale (le chat). Une étude préliminaire de ce problème avait été déjà entreprise par S.S. Ahmed.

(Ahmed, 1966 et 1967). Le Docteur Supat Suchari essaye de croiser des mâles et des femelles de rats et hamsters positifs à l'infestation filarienne en vue d'isoler une souche sensible à l'infestation. De plus, chez les animaux infestés mais qui ne présentent pas de microfilaires, il essaye de savoir si les larves infestantes de filaires n'atteignent pas le stade adulte ou si seulement les filaires femelles adultes ne produisent pas de microfilaires.

Après des essais infructueux de transmission de Brugia par C.p.fatigans, Monsieur Obiamiwe essaye de nourrir cette espèce sur membrane (la meilleure semble être la peau de jeunes poussins). Ces essais sont tentés en vue d'infester expérimentalement C.p.fatigans par W.bancrofti en nourrissant cette espèce sur sang infesté, conservé au congélateur dans des petits sacs en plastique scellés après addition d'une solution de glucose et de citrate de soude.

Enfin, dans ce même laboratoire, Monsieur Birtwistle a entrepris une étude biochimique sur la constitution génétique des souches d'Ae.aegypti sensibles ou résistantes à l'infestation filarienne.

### 2.2.3. Laboratoire de Parasitologie vétérinaire.

Ce laboratoire est dirigé par le Docteur Clarkson assisté du Docteur Beesley.

Le Docteur Clarkson s'intéresse notamment à l'aspect immunologique des trypanosomiasés (T.vivax chez les ovins en particulier) et des histomoniasés (Histomonas meleagridis des dindons plus particulièrement). Messieurs Awan, Rees et Beg participent à l'exécution de ces recherches.

Après avoir notamment travaillé au Centre de recherches sur les helminthiases de Kumba (Cameroun) sur la biologie et le contrôle des vecteurs de la loase et de l'onchocercose, le Docteur Beesley s'intéresse actuellement aux Oestridae parasites des bovins (Hypodema lineatum et H. bovis), il a particulièrement étudié la biologie des stades larvaires, les moyens de lutte contre ces parasites par des insecticides systémiques organophosphorés (en particulier le trichlorphon et le Ruelene).

### 3. Visite à l'Ecole d'Hygiène et de Médecine tropicale de Londres.

Cette Ecole comporte 10 départements :

- Bactériologie et Immunologie : Professeur D.G. Evans (bactériologie et immunologie) - Professeur F. Fulton (virologie).
- Médecine et clinique tropicales : Professeur A.W. Woodruff.
- Entomologie : Professeur D.S. Bertram et J.R. Busvine.
- Nutrition humaine : Professeur B.S. Platt.
- Epidémiologie et Statistiques médicales : Professeurs D.D. Reid et P. Armitage.
- Physiologie appliquée : Professeur R.S.F. Shilling.
- Parasitologie : Professeurs P.C.C. Garnham et G.S. Nelson.
- Santé Publique : Professeurs J.N. Morris et R.F.L. Logan.
- Ross Institute d'hygiène tropicale : Professeur G. Macdonald  
(décédé fin 1967)
- Unité de Recherches sur la physiologie du milieu : Professeur J.S. Weiner

J'ai pu rencontrer plusieurs chercheurs des départements de Parasitologie, d'Entomologie et du Ross Institute.



### 3.1. Département d'Entomologie.

Les recherches de ce département sont de deux sortes : études de la biologie et du pouvoir vecteur des arthropodes d'intérêt médical (Professeur Bertram), recherches sur les insecticides (Professeur Busvine). Dans la première catégorie on peut notamment placer les recherches sur les moustiques et tiques vecteurs de virus, sur la biologie des moustiques en relation avec la transmission des filaires, sur la culture des tissus d'arthropodes pour colonisation de virus, sur la biologie des glossines, sur l'élevage au laboratoire des simulies, sur la bio-écologie des muscidae et calliphoridae. De la deuxième catégorie, font partie les recherches sur la résistance aux insecticides (notamment résistance au DDT chez C.p.fatigans, biochimie de la résistance chez Chrysomya puteria) sur le comportement des moustiques exposés au DDT, sur les larvicides anti-simulies.

J'ai pu rencontrer le Docteur Bendell qui s'intéresse particulièrement au comportement des moustiques (Anopheles atroparvus et A.gambiae) exposés au DDT. J'ai aussi pu faire une rapide visite au Professeur Bertram et au Docteur R.C. Muirhead-Thomson qui travaille sur l'élevage au laboratoire des simulies et sur les larvicides anti-simulies. J'ai enfin rencontré le Docteur B.R. Laurence, connu pour ses travaux sur la biologie des moustiques et leur rôle dans la transmission des filaires. Le Docteur Laurence a notamment élevé au laboratoire plusieurs espèces de Mansonia dont M.uniformis et récemment M.richardii. Tout dernièrement, il a aussi étudié l'adaptation d'une filaire (Bru-gia patei) à un hôte nouveau (Aedes togoi) et a pu mettre en évidence, par une nouvelle technique de coloration, une structure inconnue jusqu'à ce jour chez les microfilaires. Enfin, il vient d'entreprendre une étude histologique et histochimique sur les différents stades de B.patei évoluant chez les moustiques.

### 3.2. Département de Parasitologie.

Mis à part un bref entretien que j'ai pu avoir avec Monsieur le Professeur Garnham, Chef du Département, titulaire de la chaire de Protozoologie, la plus grande partie du temps que j'ai passé dans ce département, a été occupée par ma visite au Service d'helminthologie et à Winches Farm (ferme située à 30 km. environ de Londres, dépendant du département) où j'ai pu notamment rencontrer le Professeur Nelson, titulaire de la chaire, Monsieur Webbe, Reader en Parasitologie, le Docteur Muller, le Docteur Gooneratne et Monsieur Eichler.

Le Docteur Muller s'intéresse particulièrement à la transmission de la dracunculose par les cyclops et étudie le cycle d'un Diphyllobothrium qui est responsable d'une sparganose humaine en Afrique de l'Est. Monsieur Webbe, arrivé depuis peu dans le Service poursuit ses travaux sur les schistosomiasés. Le Docteur Gooneratne a entrepris une étude sur le cycle de Cardiofilaria nilési, filaire parasite des poules, qui se localise à l'état adulte dans les cavités péritonéale et péricardiale. Monsieur Eichler poursuit l'étude entreprise par J.P. Mc Mahon et G. Nelson sur le cycle d'Onchocerca gutturosa, filaire parasite des bovins, qui se localise à l'état adulte sur les ligaments du cou et dans le tissu connectif gastro-splénique, transmise localement par Simulium ornatum. Les travaux antérieurs effectués sur cette filaire, ont permis de constater que les microfilaires avaient une localisation très différente de celle des adultes (au niveau de l'ombilic) et que, injectées à un hôte anormal (le rat) elles se localisaient autour des oreilles et du museau (Nelson et al., 1966). Suivant la technique décrite par Nelson (1962) pour infester expérimentalement Ae. aegypti par S. labiatopapillosa, avec du sang défibriné contenant des microfilaires prélevées sur les

filaires adultes, à travers une membrane artificielle, on a pu infester S.ornatum par O.gutturosa. Cependant les microfilaires n'évoluent pas, il est possible que ces microfilaires, prélevées directement sur les filaires adultes, n'aient pas atteint le degré de maturité nécessaire qui serait celui des microfilaires de la région ombilicale.

Le Professeur Nelson a récemment entrepris une étude sur la différenciation géographique des souches de Trichinella spiralis, il a pu notamment constater le faible pouvoir d'infestation des souches provenant de carnivores sauvages d'Afrique de l'Est, vis-à-vis des rats et des porcs domestiques. L'essentiel de nos entretiens avec le Professeur Nelson a cependant porté sur le problème de détermination des larves infestantes de filaires qui nous intéressait plus particulièrement puisque Monsieur Nelson reçoit la plupart des larves infestantes que nous récoltons chez les Culicidae en Afrique de l'Ouest. Il s'avère que plusieurs cycles de transmission devraient être tentés pour confirmer la détermination des larves infestantes trouvées chez plusieurs espèces (notamment W.bancrofti chez C.antennatus et A.wellcomei). D'autre part la fréquence des larves infestantes inconnues ou déterminables seulement au niveau du groupe (Brugia sp. et Dirofilaria sp. notamment) permet de penser que la faune filarienne est riche dans les zones où nous avons travaillé (Tingréla, Haute-Volta, en particulier) et qu'une recherche des filaires adultes chez les animaux domestiques et surtout sauvages serait très intéressante. Le Professeur Nelson aimerait participer à ce travail et envisagerait de venir à Bobo-Dioulasso si cela était possible.

### 3.3: Ross Institute.

J'ai pu rencontrer au Ross Institute, le Docteur Davidson, Reader en Entomologie appliquée au Paludisme.

Le Docteur Davidson utilise la technique d'insémination artificielle pour croiser différentes souches d'Anopheles. Cette technique est utilisée à Bobo-Dioulasso par Monsieur J. Coz. Depuis peu le Docteur Davidson utilise la méthode de Coluzzi et Sabatini (1967) qui permet de différencier les groupes A et B d'A.gambiae d'après la structure des hetero chromosomes. Cette méthode est aussi utilisée par J. Coz, à Bobo-Dioulasso. Dans la mesure où elle est valable, cette technique permettra notamment d'éviter l'insémination artificielle et d'obtenir plus rapidement les résultats (au bout de 5 jours au lieu de 15 à 18 par la technique des croisements).

Le Docteur Davidson a constaté que certains croisements entre groupes du complexe A.gambiae donnaient un F1 presque entièrement constitué de mâles stériles (par exemple croisement entre mâles du groupe B x femelles de A.melas). Théoriquement un apport d'oeufs issus d'un tel croisement dans les gîtes naturels, égal au nombre d'oeufs naturellement déposés, permet d'obtenir l'éradication de l'espèce. Un essai sur le terrain est actuellement en cours de réalisation à Pala (Haute-Volta).

Le Docteur Davidson dirige d'autres études (génétiques, cytogénétiques, résistance et sensibilité) effectuées sur différentes espèces d'Anopheles (A.pharoensis, A.stephensi, A.farauti, A.saccharovi, A.m.messeae, A.sergenti, A.albimanus).

4. Visite à l'Institut National pour la Recherche Médicale.

Cet Institut comporte un grand nombre de départements qui travaillent sur des sujets de recherches très variés.

Dans cet Institut j'ai rencontré le Docteur Hawking, Chef du département de Parasitologie, et Monsieur Worms qui travaille dans ce même département.

Le Docteur Hawking a étudié notamment, depuis 1957, les différents facteurs qui déterminent la périodicité des microfilaires. Ainsi, il a pu distinguer 3 groupes de filaires dont la périodicité est déterminée par des facteurs différents. Les stimuli utilisées étaient : l'Hyperoxygénation, l'hypoxygénation, le gaz carbonique, l'exercice, l'accroissement de la température du corps, l'anesthésie, l'acetylcholine, la sérotonine. L'ensemble des résultats sont résumés dans la publication : Hawking (1967).

Le Docteur Hawking a entrepris maintenant une étude sur les facteurs déterminant les cycles des hématozoaires. Ainsi avec Plasmodium knowlesi, il a constaté que les gamétocytes formés vers midi, étaient infestants 36 heures plus tard, donc vers minuit, et dégénéraient le jour suivant. Un développement de ce type a aussi été observé chez P.cynomolgi et P.cathemerium. Il est probable qu'il existe aussi chez les Plasmodium humain (sauf chez P.falci-parum). Ce rythme de production des gamétocytes serait déterminé par les variations nycthémerales de la température du corps. En provoquant des variations différentes de la température on peut modifier le rythme de production des gamétocytes (Hawking et al., 1968 a et b).

Monsieur Worms travaille particulièrement sur les filaires d'oiseaux d'Angleterre et étudie l'ultrastructure des microfilaires et des formes larvaires évoluant chez l'insecte de plusieurs espèces de filaires.

Dans ce laboratoire sont maintenus plusieurs espèces de filaires dont Litosomoides carinii sur le rat du coton et Dipetalonema wittei sur le mérion, ainsi que plusieurs espèces de Plasmodium.

#### 5. Visite au British Museum.

Une rapide visite au British Museum m'a permis de rencontrer les Docteurs Lewis et Mattingly. Le Docteur Lewis est particulièrement connu par ses travaux sur les Phlébotomes et les Simulies (en relation avec la transmission de l'Onchocercose humaine). Le Docteur Mattingly a travaillé essentiellement sur les Culicidae (systématique, biologie) et sur leur rôle dans la transmission de maladies (notamment Paludisme et filariose).

#### 6. Conclusions.

Cette Mission en Angleterre m'a donc permis de rencontrer différents chercheurs et de m'initier aux différentes techniques qu'ils utilisent suivant le type de recherches poursuivies.

En plus des discussions toujours éminemment profitables que j'ai pu avoir avec les personnes rencontrées, la plupart des chercheurs qui m'ont reçu, ont eu l'obligeance de me donner les

tirés à part de leurs principaux travaux susceptibles de m'intéresser. Cette documentation m'est évidemment très utile dans la poursuite de mon travail et surtout pour l'orientation de mes recherches ultérieures.

B I B L I O G R A P H I E .

- AHMED (S.S.), 1966.- J.Trop.Med.Hyg., 69, 291-293.
- AHMED (S.S.), 1967.- Ann.Trop.med.Parasit., 61, 93-100.
- COLUZZI (M.) et SABATINI (A.), 1967.- Parassitologia, 9, (2), 73-88.
- HAWKING (F.), 1967.- Proc.Roy.Soc.B., 169, 59-76.
- HAWKING (F.) et al., 1968 a.- Lancet, March 9.
- HAWKING (F.) et al., 1968 b.- Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg., 62, (6), 731-765.
- HOCKING (B.), 1953.- Trans.R.ent.Soc.London, 104, 223.
- MACDONALD (W.W.), 1962 a.- Ann.Trop.Med.Parasit., 56, (3), 368-372.
- MACDONALD (W.W.), 1962 b.- Ann.Trop.Med.Parasit., 56, (3), 373-382.
- MACDONALD (W.W.), 1963 a.- Ann.Trop.Med.Parasit., 57, (4), 452-460.
- MACDONALD (W.W.), 1963 b.- Ann.Trop.Med.Parasit., 57, (4), 461-465.
- MACDONALD (W.W.), 1965.- Cah.O.R.S.T.O.M., sér.Ent.méd., 3/4, 111-113.
- MACDONALD (W.W.) et al., 1965 a.- Ann.Trop.Med.Parasit., 59, (1), 64-73.
- MACDONALD (W.W.) et al., 1965 b.- Ann.Trop.Med.Parasit., 59, (1), 74-87.
- MACDONALD (W.W.), 1967.- in "Genetics of insects vectors of disease" Ed. Wright et Pal, ch. 19, 567-584.

- MACDONALD (W.W.) et al., 1967 a.- J.Med.Ent., 4, 146-157.
- MACDONALD (W.W.) et al., 1967 b.- Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.,  
61, 21.
- NELSON (G.S.), 1962.- J.Helminth., 36, 281-296.
- NELSON (G.S.), 1966.- Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg., 60, 17.
- TOWNSON (H.), 1967a.- Ph. D. Thesis Liverpool School of Tropical  
Medicine.
- TOWNSON (H.), 1967b.- Trans.R.Soc.trop.Med.Hyg., 61, 19.