PN-ABD-466

# ILRAD 1985

RAPPORT ANNUEL DU
LABORATOIRE INTERNATIONAL
POUR LA RECHERCHE SUR LES MALADIES ANIMALES

Fondé en 1973, le Laboratoire international pour la recherche sur les maladies animales a pour mandat d'élaborer des mesures efficaces de lutte contre les maladies du bétail, qui limitent gravement la production alimentaire mondiale. Le programme de recherches de l'ILRAD vise principalement la trypanosomiase animale d'Afrique et la fièvre de la Côte orientale, forme de theilériose.

L'ILRAD est un des 13 centres dont se compose le réseau mondial de recherches agricoles que patronne le Groupe consultatif pour la recherche agricole internationale (GCRAI). En 1985, le financement central de l'œuvre de recherche et de formation de l'ILRAD est provenu des sources suivantes: Banque internationale pour la reconstruction et le développement (BIRD); Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD); l'Allemagne fédérale, l'Australie, la Belgique, le Canada, le Danemark, les Etats-Unis, la France, l'Italie, le Japon, la Norvège, les Pays-Bas, le Royaume-Uni, la Suède et la Suisse. Des recherches spéciales ont bénéficié de l'appui de la Communauté économique européenne (CEE), de l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) et du Gouvernement néerlandais.

L'ILRAD a l'entière responsabilité des idées et des données qui se trouvent dans le présent rapport. La mention d'une marque déposée ne signifie pas que le produit en question a l'agrément de l'ILRAD.

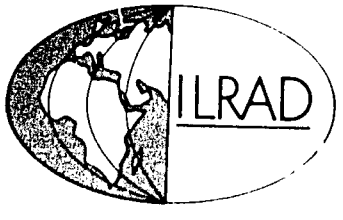
Titre exact du présent rapport: ILRAD (Laboratoire international pour la recherche sur les maladies animales), 1987. *ILRAD: 1985*. Naïrobi, ILRAD.

ISBN 92-9055-185-2.

Numéro au Catalogue de la Library of Congress des Etats-Unis: 82-981264.

# ILRAD: 1985

RAPPORT ANNUEL DU
LABORATOIRE INTERNATIONAL POUR
LA RECHERCHE SUR LES MALADIES ANIMALES




INTERNATIONAL LABORATORY
FOR RESEARCH ON ANIMAL DISEASES
B P 30709 NAIROBI (KENYA)

# AVANT-PROPOS

Fondé en 1973, le Laboratoire international de recherches sur les maladies animales (ILRAD) a pour mandat de trouver des mesures efficaces de lutte contre des maladies du bétail qui limitent gravement la production mondiale d'aliments. Les recherches de l'ILRAD visent essentiellement la trypanosomiase animale d'Afrique et la fièvre de la Côte orientale (FCO), forme de theilériose. Ces deux maladies gênent beaucoup la production de l'élevage et le progrès économique des campagnes, en Afrique et dans d'autres régions des tropiques, causant ainsi sur de grandes étendues, tant directement qu'indirectement, des pertes économiques et des souffrances humaines.

Il est peu probable qu'on arrive vite ou facilement à améliorer la lutte contre la trypanosomiase ou contre la theilériose. Il y a bien longtemps déjà qu'on a reconnu la complexité de ces deux problèmes de santé animale. Il faut un très gros effort de recherche pour arriver à mieux comprendre: les protozoaires parasites qui causent ces maladies; la marche de ces maladies elles-mêmes; la réaction des bestiaux infectés; les moyens d'empêcher de nouvelles pertes, ou de les réduire.

Pour satisfaire à ces besoins, l'ILRAD s'est graduellement rendu mieux capable de procéder aux recherches scientifiques nécessaires; il a commencé èn 1975 à construire ses installations de base, à Kabété, dans la banlieue de Naïrobi (Kénya), et a reçu un petit noyau de chercheurs. Actuellement, l'ILRAD occupe un ensemble de laboratoires de recherche et d'unités auxiliaires, notamment une station d'élevage des bovins à Kapiti, à 80 kilomètres environ de Naïrobi, et il a reçu un personnel complet, choisi internationalement, de chercheurs et de spécialistes scientifiques, aidés par le personnel auxiliaire qui convient.

Les recherches de Kabété ont pour complément des accords de collaboration avec des laboratoires de recherche d'Afrique et d'autres régions du monde. L'ILRAD a établi d'importants contacts avec le réseau national de recherches de beaucoup de pays d'Afrique où sévissent la trypanosomiase et la theilériose: recherches en collaboration, réunions scientifiques, formation, diffusion de comptes-rendus de recherches. L'ILRAD, d'autre part, reste en contact étroit avec les organisations internationales et institutions d'assistance technique bilatérale qui s'occupent de lutte contre les maladies animales et de progrès de l'agriculture. Citons, parmi ces organisations ou institutions, la Banque internationale pour la reconstruction et le développement (BIRD), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), le Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD), l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'Organisation de l'unité Africaine (OUA),

le Centre international pour l'élevage en Afrique (CIPEA).

Etant un des 13 centres internationaux de recherches agricoles que soutient le Groupe consultatif pour la recherche agricole internationale (GCRAI), l'ILRAD fait l'objet, tous les cinq ans, d'un examen externe de ses programmes et de sa gestion. Vers la fin de 1985 et en janvier 1986, deux jurys de spécialistes scientifiques ou administratifs envoyés par le GCRAI ont examiné sous toutes leurs faces les programmes de recherche et de formation de l'ILRAD. Le président du jury d'examen externe des programmes était le professeur Jos Mortelmans, de l'Institut de médecine tropicale Prince Léopold (Belgique); celui du jury d'examen externe de la gestion était M. Frank Raymond, ex-*Chief Scientist* du Ministère britannique de l'agriculture, la pêche et l'alimentation. Ces deux jurys se sont principalement intéressés à l'œuvre accomplie par l'ILRAD depuis 1980, date de son premier examen externe. Ses réalisations, de quelque façon qu'on les mesure, ont été considérables. En voici, très résumées, quelques-unes.

- Il a étudié en détail l'épidémiologie de la trypanosomiase dans une station de la Province côtière du Kénya, en s'attachant spécialement à caractériser les sérodèmes et à envisager la possibilité de conférer l'immunité au moyen d'un traitement chimiothérapeutique.
- Il a constitué dans huit pays d'Afrique, avec le CIPEA et les services nationaux de production de l'élevage, un réseau de recherches en collaboration, pour juger de la productivité du bétail trypanotolérant selon un risque plus ou moins grand de trypanosomiase.
- Il a mis au point des techniques nouvelles pour diagnostiquer la trypanosomiase, et pour déterminer l'origine des repas de sang des glossines.
- Il a créé des régimes de culture *in vitro*, pour élever les trois principales espèces pathogènes de trypanosome, de façon à pouvoir s'en servir pour toute une série d'études, notamment pour contrôler *in vitro* leur sensibilité aux produits chimiques.
- Il a étudié les dispositifs génétiques qui sont à l'origine de la variation antigénique chez *Trypanosoma brucei* et *T congolense*, ainsi que la synthèse des antigènes superficiels variables chez *T brucei*.
- Il a découvert que les réactions de l'hôte influent sur la transformation des trypanosomes dans le courant sanguin, de la forme à division rapide à la forme sans division, et que c'est cette transformation qui déclenche la réaction immunitaire humorale.
- Il a exposé l'effet immunosuppressif de l'infection par *T brucei*, effet qui consiste à empêcher la maturation des lymphocytes B, et à briser la structure des ganglions lymphatiques et de la rate.
- Il a démontré la résistance à la trypanosomiase des veaux ndama que l'ILRAD a fait venir de Gambie par transfert d'embryons, et celle de diverses espèces de mammifères sauvages.
- Il s'est servi de la technique des anticorps monoclonaux pour caractériser des lignées de *Theileria parva parva* et *T p lawrencei* qui provenaient du Kénya et d'autres pays d'Afrique orientale ou australe.
- Il a étudié l'épidémiologie de la FCO et procédé à des essais d'immunisation par «infection plus traitement» dans la Province côtière du Kénya; il a apporté son soutien aux opérations des services vétérinaires nationaux et de la FAO dans leurs essais analogues sur le terrain au Burundi, au Malawi, au Rwanda, en Zambie, en Tanzanie (Zanzibar), et au Zimbabwé.
- Il a identifié, isolé et caractérisé des antigènes des sporozoïtes de *Theileria* qui pourraient être la base d'un meilleur vaccin.
- Il a procédé à des études immunologiques et biochimiques pour identifier des antigènes, associés aux schizontes de *Theileria*, qui pourraient eux aussi donner un vaccin amélioré.
- Il s'est servi des techniques de l'ADN recombinant pour constituer des banques de génomes et d'ADNc, en vue de produire des

antigènes de *Theileria* qui puissent être la base de vaccins améliorés.

Citons, parmi les principaux travaux de l'ILRAD en 1985, la mise en train—dans le cadre du réseau CIPEA/ILRAD de trypanotolérance—de l'opération spéciale relative à l'étude des bovins ndama dans plusieurs stations de Gambie et du Sénégal. Il conduit cette opération en collaboration avec le Centre international de trypanotolérance de Gambie et avec le soutien de la Communauté économique européene (CEE). Les chercheurs du réseau de trypanotolérance se sont réunis en décembre à l'ILRAD pour examiner à fond les réalisations qu'il a déjà à son actif et pour débattre des travaux à venir.

Il ressort des études épidémiologiques sur la trypanosomiase qu'il existe, entre les isolats de *T congolense*, des différences chromosomiques qui justifieraient, semble-t-il, la définition d'une nouvelle espèce de *Trypanosoma*. Le Laboratoire poursuit ses recherches sur la biochimie des trypanosomes et sur leurs antigènes; il s'efforce à ce titre de développer la culture *in vitro* des trois principales espèces de *Trypanosoma*. En collaboration avec l'Institut tropical suisse, il s'efforce d'identifier les facteurs de croissance des trypanosomes; l'Institution japonaise de coopération internationale soutient l'opération spéciale de l'ILRAD qui consiste à cultiver *T brucei*. Nos chercheurs emploient les techniques de la cytologie et celles de la microscopie immunoélectronique pour examiner certains côtés du métabolisme des trypanosomes: leur but est de trouver des dispositifs récepteurs vulnérables qu'on pourrait bloquer par des moyens chimiques ou immunologiques.

Nous continuons à étudier les réactions de l'hôte qui stimulent la croissance des trypanosomes et celles qui l'empêchent, et la disparition, du fait des parasites, de la réaction immunitaire. L'ILRAD obtient les matériaux de ses études comparatives grâce à sa collaboration avec la division de la faune du Laboratoire kényen de recherche vétérinaire, au titre d'une opération spéciale financée par le Gouvernement néerlandais. Ce domaine de recherche incite au plus haut point à l'innovation et à l'originalité, le but ultime restant de renforcer les réactions de protection contre l'infection par trypanosomes.

Les chercheurs qui veulent produire un vaccin contre les sporozoïtes de *Theileria* ont, en 1985, traité des protéines pour obtenir des séquences d'amino-acides, et ont exploité leurs banques d'ADN pour identifier les gènes responsables des antigènes des sporozoïtes. Un groupe international d'études sur les antigènes des theilérias s'est réuni en mai; il a rassemblé des spécialistes d'immunologie et de parasitologie du monde entier.

En étudiant les antigènes associés aux schizontes de *Theileria*, nos chercheurs ont eu à approfondir leur examen du système immunitaire des bovins, notamment du rôle que jouent les antigènes d'histocompatibilité majeure, et de leur action réciproque avec les antigènes du parasite à la surface des lymphocytes infectés. Ils ont mis en culture des clones de lymphocytes T, et s'en servent maintenant pour étudier plusieurs caracteres de l'immunité cellulaire.

Si impressionnantes que soient ces réalisations, il importe toujours de faire que les recherches de l'ILRAD restent liées aux besoins réels des pays d'Afrique où sévissent la trypanosomiase et la theilériose. En 1985, le soutien de l'ILRAD a permis aux chercheurs de plusieurs pays d'Afrique de participer à des réunions scientifiques sur la trypanotolérance, les antigènes des parasites, la lutte contre la FCO, et d'autres domaines de recherche qui concernent les maladies dues à des protozoaires. Les échanges de connaissances et d'idées dont sont l'occasion les réunions patronnées par l'ILRAD ont eu le mérite de garder les recherches axées sur les côtés pratiques de la lutte contre ces maladies. Le programme de formation a continué à s'amplifier en 1985; il a permis à davantage de chercheurs africains titulaires du doctorat de venir à l'ILRAD passer six à neuf mois à développer leurs connaissances et leurs talents.

Nous avons l'intention de continuer à favoriser cette œuvre de formation et d'information.

Je voudrais, pour conclure mon avant-propos, souligner le rôle du Conseil de direction de l'ILRAD, de son personnel scientifique et son personnel auxiliaire, ainsi que des organisations et nations donatrices, qui soutiennent collectivement les efforts dont le but est de trouver, puis d'appliquer, de meilleures mesures de lutte contre la theiléríose et contre la trypanosomiase animale. En 1985, le Dr Léo Jenni, de l'Institut tropical suisse, est entré à l'ILRAD comme membre du Conseil de direction, et deux de nos chercheurs de haut grade, le Dr Max Murray et le Dr Tony Irvin, nous ont quittés pour d'autres postes, après bien des années de très utiles travaux de recherche avec nous; d'autre part, S.E. Daniel arap Moï, Président du Kénya, a nommé au Conseil de l'Université Kényatta un autre de nos chercheurs de haut grade, le Dr Onesmo olé MoïYoï.

C'est avec gratitude que je rappelle ici l'intérêt et l'appui financier dont l'ILRAD bénéficie—pour son œuvre de recherche et de formation—de la part de beaucoup de pays et d'organisations. Il a continué, en 1985, à recevoir des fonds de la BIRD et du PNUD, ainsi que des pays suivants: Allemagne fédérale, Australie, Belgique, Canada, Etats-Unis, France, Italie, Japon, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni, Suède, Suisse. Le Danemark s'est joint à eux pendant l'année, et la Fondation Rockefeller s'est engagée à nous soutenir à partir de 1986. En plus de ses programmes centraux, l'ILRAD a des opérations spéciales, qui bénéficient de l'appui de la CEE, du Gouvernement néerlandais et de l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA); d'autre part, l'Allemagne, la Belgique, la France, l'Italie, le Japon et le Royaume-Uni nous ont détaché des chercheurs dont ils ont financé la mission grâce à des fonds spéciaux.

Pendant l'année, nous avons eu l'honneur de recevoir la visite des personnalités suivantes: Mme M. Moriyama, Ministre-adjoint des affaires étrangères du Japon, M S. Husain, Président du GCRAI, et LL-EE les ambassadeurs de la Belgique, des Etats-Unis, du Japon, de la Norvège et de la Suisse, et les hauts-commissaires de l'Australie, du Canada et du Royaume-Uni. Nous attachons du prix à ces visites, ainsi qu'à nos contacts avec les conseillers scientifiques et techniques ou les représentants de tous les pays donateurs et toutes les organisations qui soutiennent notre œuvre.

Je me fais enfin un plaisir de rendre hommage à l'appui que, depuis des années, l'ILRAD reçoit du peuple kényen et de son Gouvernement. Nous espérons bien continuer à avoir des rapports aussi chaleureux avec le pays qui a accueilli l'ILRAD: le Kénya.

Dr. A.R. Gray
Directeur général de l'ILRAD

# TABLE DES MATIERES

**Avant-propos** 2

**Theilériose** 8
Le cycle vital de la theléria 9
Le sporozoïte 9
L'invasion des cellules de l'hôte 9
Réactions immunitaires contre les antigènes des sporozoïtes 11
La cellule infectée par des schizontes 12
Prolifération des cellules infectées 12
Changements antigéniques sur les cellules infectées 13
Réactions immunitaires contre les cellules infectées par des schizontes 14
Définition des types de cellule 14
Définition d'antigènes d'HCM 17
Réactions immunitaires d'origine cellulaire 19
Epidémiologie, immunisation expérimentale 20
Caractérisation des lignées 20
Immunisation expérimentale 23
La cowdriose. Observations préliminaires 26
Les tiques et la réaction immunitaire 28

**Trypanosomiase** 33
Meilleure lutte contre les parasites 34
Variation antigénique: *T brucei* et *T congolense* 35
Variation antigénique: *T vivax* 37
Protéines spécifiques des étapes du cycle 39
Le métabolisme des trypanosomes 40
Culture des trypanosomes *in vitro* 42
Meilleures réactions de l'hôte 43
Pathogenèse. Effects de la trypanosomiase sur la reproduction des bovins 46
Epidémiologie 47
Les diverses populations de trypanosomes 47
Classement sérologique: l'antigène commun 48
Classement sérologique; antigènes spécifiques 48

Classement sérologique; sérodèmes de *T congolense* (Kilifi) 48
Etudes *in vivo* 49
L'emploi de sondes génomiques 49
Analyse isoenzymatique 51
Les glossines vectrices 53
Production du bétail en danger de trypanosomiase 56
Produits trypanocides; leur contrôle *in vitro* 56
Les trypanocides et la protection qu'ils confèrent 57
Etude de la résistance à la trypanosomiase 59
Le réseau de recherches sur la trypanotolérance. 63

**Services de formation et d'information** 67
Formation 67
Services d'information 69
La bibliothèque de l'ILRAD 70

**Services auxiliaires** 71
Laboratoire glossine 71
Laboratoire tique 71
Production de bétail 73
Animaux de laboratoire 73
Services cliniques et diagnostiques 74

**Publications de 1985** 76

**Conseil des Directeurs** 80

**Personnel** 81

**Situation financière** 88

# THEILERIOSE

On désigne du nom de theilériose un groupe de maladies transmises par des tiques et dont les agents sont des parasites protozoaires du genre *Theileria*. Ces parasites infectent des animaux sauvages et des animaux domestiques—les bovins en particulier—, et ces maladies constituent, dans beaucoup de régions du monde, un obstacle majeur au développement de l'élevage et à son progrès.

Les espèces les plus importantes de *Theileria* sont: *T parva*, qui cause la FCO chez les bovins d'Afrique orientale et centrale, et *T annulata*, qui cause la theilériose tropicale chez les bovins du littoral méditerranéen et du Levant, mais aussi de l'Inde, de la Russie méridionale et de l'Extrême-Orient. Autres espèces importantes: chez les bovins, *T sergenti*, *T orientalis* et *T mutans*; chez les ovins et les caprins, *T hirci*.

L'ILRAD concentre ses efforts sur la FCO, qui sévit au Burundi, au Kénya, au Malawi, au Mozambique, en Ouganda, en Tanzanie, au Zaïre, en Zambie et au Zimbabwé. Dans l'ensemble de ces pays, un cheptel de 25 millions de bovins risque la maladie. A l'heure actuelle, le principal moyen de lutter contre la FCO est d'appliquer des acaricides, par bains ou aspersions, sur les bestiaux, de façon à tuer les tiques vectrices, mais ce procédé devient de plus en plus difficile et coûteaux; il faut chercher d'urgence d'autres moyens de lutte. Grâce aux récents progrès de la chimiothérapie, nous avons maintenant plusieurs produits efficaces pour traiter la FCO; mais prévenir vaut toujours mieux que guérir.

L'idée d'immuniser les bestiaux pour prévenir leur infection par la FCO se présente dans une perspective prometteuse, parce que les bovins qui guérissent de la FCO manifestent une immunité durable, même quand ils ne sont pas exposés à l'attaque de la maladie. Mais il y a différentes lignées de *T parva*; quand on immunise les bêtes avec une de ces lignées, on ne les protège pas forcément contre l'attaque d'une lignée non apparentée. On ne sait pas combien il y a de lignées qui attaquent le bétail, mais il semble bien que certains isolats ou groupes d'isolats assurent une large protection. On peut donc espérer vaincre la FCO par vaccination, et l'ILRAD fonde beaucoup d'espoirs sur cette méthode.

Pour mettre au point un vaccin, il faut connaître bien et le parasite et son hôte. Les études qu'avait entreprises au sujet des theilérias l'ancienne Organisation est-africaine de recherches vétérinaires ont abouti à l'adoption d'une méthode d'immunisation qui consiste à infecter le bétail avec des theilérias, mais à le traiter en même temps. C'est actuellement la méthode de vaccination qui est la plus pratique et la plus efficace—à condition d'être bien surveillée—, et bon nombre de pays l'appliquent dans de

vastes essais sur le terrain. Mais cette méthode a trois inconvénients: mal administrée, l'infection par des parasites vivants risque d'être mortelle; on peut ne pas parvenir à une protection totale aux endroits où il se trouve plusieurs lignées du parasite; les sujets vaccinés peuvent devenir porteurs du parasite qui a servi à les immuniser.

Nous travaillons actuellement, à l'ILRAD, à éliminer ces inconvénients; mais nous nous préoccupons davantage d'obtenir, pour l'immunisation, des antigènes purifiés qui ne les présenteront pas, ces inconvénients propres aux vaccins vivants. Le second grand domaine de nos recherches est de déterminer les dispositifs qui commandent l'immunité de l'hôte à l'égard de la FCO. De ce côté-là, il a fallu beaucoup de recherche pure sur le système immunitaire des bovins. Le rapport qui suit détaille les travaux accomplis dans ce sens.

## LE CYCLE VITAL DE LA THEILERIA

La theiléria a un cycle vital complexe, tant chez son hôte bovin que chez la tique, son vecteur. La tique brune de l'oreille, *Rhipicephalus appendiculatus*, qui transmet la FCO, se nourrit sur les bovins à trois étapes de sa vie: comme larve, comme nymphe et comme adulte. Le plus souvent, c'est quand la tique, après avoir, à l'état de nymphe, piqué une bête infectée, pique, à l'état adulte, une bête indemne qu'elle transmet le parasite.

Les sporozoïtes de *Theileria* se développent dans la glande salivaire de tiques infectées, qui les injectent avec leur salive dans les bovins qu'elles piquent pour se nourrir. Une fois dans la bête, ils s'attachent à des lymphocytes, globules blancs du système immunitaire. Certains sporozoïtes pénètrent dans ces lymphocytes et se transforment en ce qu'on appelle des schizontes. Les lymphocytes ainsi infectés deviennent de grosses cellules, appelées lymphoblastes, qui se multiplient de même que le parasite, d'où une population, en rapide expansion, de cellules parasitées. Les étapes finales de l'infection se caractérisent par une destruction considérable des cellules, et souvent par la mort de l'hôte.

Au cours de l'infection, certains des schizontes se sont changés en mérozoïtes. Les cellules lymphatiques les déversent dans le courant sanguin, où ils envahissent les globules rouges et y prennent la forme de piroplasmes. Les tiques qui piquent alors l'animal s'infectent en absorbant des globules rouges qui contiennent des piroplasmes de *Theileria*. Dans l'intestin de la tique, les schizontes se différencient en gamètes, qui ensuite s'unissent pour former des zygotes. Ces zygotes à leur tour deviennent des kinètes dans les cellules qui tapissent l'intestin. Doués de mouvement, ces kinètes traversent la paroi de l'intestin, entrent dans la cavité générale, et émigrent jusqu'à la glande salivaire, où ils pénètrent dans les cellules E des acini du type III. Là, ils forment un sporoblaste intra-cellulaire complexe, le syncytium. Stimulé par le repas de la tique, le sporoblaste éclate par segmentation, ce qui libère 30.000 à 50.000 sporozoïtes. Ce sont ces sporozoïtes, introduits avec la salive de la tique dans un nouveau mammifère hôte, qui sont à l'origine d'un nouveau cycle vital du parasite.

## LE SPOROZOITE

### L'INVASION DES CELLULES DE L'HOTE

Les études de l'ILRAD ont montré que les sporozoïtes de *Theileria* se lient *in vitro* à toute une série de cellules bovines—notamment aux thymocytes, aux lymphocytes tant B que T, et à une petite sous-catégorie de macrophages—, mais que les infections actives ne s'installent que dans les lymphocytes. Nous nous sommes servis, pour ces études, d'anticorps monoclonaux qui identifient les différentes sortes de cellule en reconnaissant leurs antigènes superficiels

spécifiques. Nous obtenons ces anticorps monoclonaux au moyen de cellules hybrides issues de la fusion de cellules de rate de souris, amorcées pour produire tel ou tel anticorps, et de cellules tumorales de souris, capables de croître et se multiplier en culture.

Dans l'étude que nous avions commencée en 1984, nous avons comparé comment, *in vitro*, les sporozoïtes se liaient aux leucocytes mononucléaires du sang périphérique et les infectaient, selon que ces leucocytes venaient de bovins domestiques ou de buffles d'Afrique (*Syncerus caffer*). Le but de cette recherche était d'élucider le dispositif qui permet au buffle d'Afrique de résister à la theiléniose. Les sporozoïtes dont nous nous sommes servis venaient de deux sous-espèces de *Theileria parva*: *T p parva* (Muguga), qui cause chez les bovins domestiques la FCO classique, et *T p lawrencei*, dont les buffles sauvages sont porteurs sans symptômes, mais qui est extrêmement pathogène pour les bovins domestiques, chez qui elle cause d'ordinaire des infections mortelles. Il n'y a pas eu de grosse différence dans le nombre des cellules qui se liaient aux sporozoïtes de *T p parva* ou *T p lawrencei* ou qui s'infectaient, selon qu'elles venaient de bovins domestiques ou de buffles: environ 30% des cellules de chaque espèce se liaient aux sporozoïtes de *T p parva*, et environ 20% avaient des schizontes après une semaine *in vitro*. Mais beaucoup moins de cellules de buffle que de cellules bovines se sont transformées, sous l'influence de l'infection par *T p parva*, en une population à division rapide, en croissance continuelle. Cette transformation limitée des cellules du buffle peut expliquer que le buffle d'Afrique soit moins sensible à l'infection par *T p parva*. Parmi les cellules infectées par *T p lawrencei*, à peu près la même proportion de cellules de buffle et de cellules bovines sont passées à la phase de division. Cela donne à penser que les buffles sont dotés d'autres dispositifs de résistance à *T p lawrencei*, dispositifs qui leur permettent de rester porteurs de l'infection sans manifester la maladie, car cette résistance n'est pas liée à des différences qu'il y aurait entre buffles et bovins domestiques quant aux dispositifs de liaison des cellules et d'installation de l'infection.

Les sporozoïtes de différentes souches de *Theileria* se lient, d'après nos observations, aux mêmes molécules réceptrices des cellules de l'hôte, ce qui nous donne à penser qu'ils ont le même dispositif de liaison avec ces cellules. Nous avons fait des expériences, en 1985, pour élucider ce dispositif en identifiant et isolant la molécule (ou les molécules) qui, à la surface des lymphocytes bovins, sert de récepteur à l'invasion des sporozoïtes. On détruit ce récepteur des lymphocytes au moyen de la protéinase K ou d'endoglycosidases, ce qui semble montrer que ce récepteur est une glycoprotéine (composée d'une protéine et d'un hydrate de carbone). Nous avons cherché, parmi les anticorps monoclonaux que nous avions contre les leucocytes du sang périphérique bovin, ceux qui bloqueraient la liaison des sporozoïtes. Un de ces anticorps reconnaissait trois molécules des leucocytes bovins, dont le poids moléculaire semble être 200.000, 135.000 et 50.000 daltons. Nous travaillons actuellement à caractériser ces molécules avec plus de précision, et aussi à identifier les hydrates de carbone qui se lient aux protéines pour former les molécules réceptrices. Notre objectif est de trouver le moyen de bloquer l'entrée des sporozoïtes, et de protéger ainsi les bestiaux contre l'infection par différentes lignées de *Theileria*.

Il se peut que les anticorps monoclonaux que produisent les cellules bovines ne reconnaissent pas les mêmes antigènes que les anticorps monoclonaux des souris, ce qui nous amènerait à beaucoup étendre notre étude actuelle du système immunitaire des bovins. Nous avions commencé à étudier en 1984 comment produire des cellules hybrides par la fusion de cellules bovines B, sécrétrices d'anticorps, avec des souches de cellules tumorales de souris, selon la technique trouvée à l'Université d'Alabama (États-Unis) pour les cellules humaines.

Nous avons poursuivi cette recherche en 1985, mais sans arriver à produire des populations stables de cellules hybrides (murines x bovines), à cause sans doute de la perte de chromosomes bovins. Il en résulte que nous cherchons maintenant à ne produire nos cellules hybrides que par la fusion de cellules bovines. Nous essayons deux souches de cellules bovines de leucémie, en croissance continuelle, pour voir si nous pourrions les hybrider avec des cellules bovines productrices d'anticorps.

## RÉACTIONS IMMUNITAIRES CONTRE LES ANTIGÈNES DES SPOROZOÏTES

On a constaté, dans le sérum des bovins d'endroits où la FCO est endémique, l'existence d'anticorps qui neutralisent les sporozoïtes de *Theileria*, et pourraient de ce fait protéger ces bêtes contre l'infection. Les antigènes qui se reconnaissent sur les sporozoïtes les antisérums des bovins immunisés ont un poids moléculaire, à ce qu'il semble bien, de 140.000, 105.000, 67.000, 43.000 et 18.500 daltons. Nous avons cultivé plusieurs anticorps monoclonaux contre les sporozoïtes de *T p parva*; ces anticorps, *in vitro*, empêchent les sporozoïtes de pénétrer dans les lymphocytes bovins. Un de ces anticorps monoclonaux reconnaît un antigène d'environ 67.000 daltons. Or on peut fragmenter cet antigène en molécules d'environ 55.000 et 25.500 daltons, molécules que cet anticorps monoclonal reconnaît aussi. Il se peut que ces antigènes des sporozoïtes soient capables de stimuler la résistance s'ils entrent dans la composition d'un vaccin contre la FCO.

Nous produisons chez des lapins des antisérums polyvalents, pour caractériser de façon plus détaillée les antigènes des sporozoïtes de *Theileria*. Un antisérum que nous avons produit contre la molécule de 25.500 daltons réagit aussi contre les antigènes de 55.000 et 67.000 daltons. Nous nous servons maintenant de cet antisérum et de l'anticorps monoclonal pour isoler l'antigène de 67.000 daltons. Les examens biochimiques nous ont appris que cet antigène est une glycoprotéine—bien que son élément hydrocarboné ne joue pas de rôle, semble-t-il, dans l'appel à la réaction protectrice de l'anticorps. Nous nous efforçons en même temps de produire un antisérum polyvalent et des anticorps monoclonaux contre les autres antigènes que reconnaît le sérum des bovins résistants.

Nous n'avons pas encore été en mesure de produire, à partir des sporozoïtes de *Theileria*, une quantité des divers antigènes qui permette de les caractériser chimiquement de façon détaillée ou de nous en servir pour des essais d'immunisation. Il est reconnu—depuis quelque temps déjà—qu'une fois qu'on aura caractérisé un antigène protecteur dérivé des sporozoïtes, il faudra le produire par les techniques de la biologie moléculaire. Nous avons beaucoup travaillé, en 1985, à identifier les séquences des gènes de *T p parva* qui codent ces antigènes protecteurs, et à trouver des dispositifs d'expression de ces gènes.

Un conservatoire génomique nous a aidés dans cette recherche: le conservatoire d'ADN génomique coupé dont la source est l'ADN des piroplasmes. Nous avons contrôlé ce conservatoire au moyen de toute une série d'antisérums et d'anticorps monoclonaux qui reconnaissent les antigènes des sporozoïtes. Le meilleur de ces moyens de contrôle a été l'antisérum prélevé sur des lapins. Un antisérum de lapin, que nous avions obtenu en inoculant à des lapins l'antigène sporozoïtique purifié de 18.500 daltons, a bloqué *in vitro* l'action infectieuse des sporozoïtes. Reconnus par cet antisérum, neuf clones de notre conservatoire génomique subissent actuellement des contrôles qui devraient confirmer qu'ils représentent bien une partie du gène de la protéine de 18.500 daltons.

Nous allons poursuivre le contrôle de l'ADN génomique pour obtenir des séquences complètes d'ADN pour les protéines de 55.000, 25.500 et 18.500 daltons. Il s'agira ensuite de purifier ces protéines en

grande quantité et de nous en servir pour voir si elles bloquent *in vitro* la pénétration des sporozoïtes, soit par compétition directe, soit par l'intermédiaire d'antisérums produits contre ces protéines, et finalement pour des essais d'immunisation de bovins. Nous soumettons aussi nos conservatoires d'ADN au contrôle d'anticorps et d'antisérums prélevés sur des bovins résistants, pour identifier des séquences supplémentaires de gènes, codeurs de protéines qui stimuleraient éventuellement l'immunité.

Puisque la protection contre l'infection par sporozoïtes aurait pour base une réaction immunitaire humorale, nous avons cherché en 1985 à savoir quelles sont les cellules qui produisent chez les bovins cette réaction immunitaire humorale. La première étape de cette recherche était d'installer un système de culture *in vitro* qui démontrerait les réactions antisomatiques de cellules bovines. Nous avons prélevé sur des bovins des lymphocytes du sang périphérique, des cellules de la rate et des cellules des ganglions lymphatiques, et les avons cultivées en présence du mitogène de *Phytolacca*. Nous avons ajouté à cette culture des globules rouges de mouton, pour stimuler une réaction immunitaire. Nous avons procédé à plusieurs expériences, avec des cellules prises à beaucoup d'animaux différents, mais les résultats n'ont pas été encourageants: la croissance des cellules dépendait beaucoup du mitogène, et peu de cellules ont atteint l'état de produire des anticorps. Quand la proportion des macrophages diminuait jusqu'à n'être plus que de 1% des cultures, la proportion des cellules productrices d'anticorps doublait ou triplait. Mais la croissance des cellules dépendait toujours du mitogène. Nous nous occupons actuellement de cultiver des cellules prises à des bovins amorcés par des piqûres sous-cutanées de globules rouges de mouton, en renforçant nos cultures *in vitro* avec ces mêmes globules rouges, mais sans le mitogène. Notre objectif est de mesurer la production d'anticorps, et d'identifier les diverses classes d'anticorps ainsi produites. Nous nous occuperons aussi de l'action réciproque des différentes sous-populations de cellules bovines dans le déclenchement des réactions immunitaires humorales.

## LA CELLULE INFECTEE PAR DES SCHIZONTES

### PROLIFERATION DES CELLULES INFECTEES

La prolifération des cellules bovines infectées par des schizontes de *Theileria* est un important facteur du cycle vital du parasite, et produit chez l'hôte infecté de sévères effets pathogéniques. Quand certaines lignées de virus transforment des cellules en tumeurs, qui elles aussi se multiplient vite, nous savons qu'une certaine classe d'enzymes, les protéinekinases, joue un grand rôle dans cette transformation. C'est pourquoi nos chercheurs ont déterminé la quantité de protéinekinases qu'il y a dans les cellules bovines normales et dans celles qu'infectent des schizontes de *Theileria*.

Les protéinekinases modifient la structure moléculaire des protéines en y attachant des phosphates; c'est ce qu'on appelle la phosphorylation. De pareilles modifications des protéines jouent un rôle dans la croissance des cellules et les phénomènes régulateurs. Certains indices nous portent à croire qu'il pourrait y avoir phosphorylation dans la prolifération des cellules infectées par les theilérias. Nous avons commencé en 1985 à comparer l'activité de la protéinekinase dans une souche clonée et non infectée de cellules T et son activité dans la même souche, mais infectée par *T parva* (Muguga). Notre but est de découvrir les dispositifs, propres aux cellules infectées, que l'on pourrait modifier pour maîtriser la maladie.

Au cours de ces expériences, les souches infectées ont incorporé à leur protéine 90 fois plus de phosphate que les cellules non infectées. Les analyses cinétiques nous ont montré que les cellules infectées étaient plus grandes que les cellules non infectées, se divisaient plus vite, et synthétisaient la pro-

téine au moins deux fois plus vite. L'électrophorèse dans un gel de polyacrylamide a décelé au moins cinq protéines—avec un poids moléculaire qui va de 12.000 daltons à 100.000—que la phosphorylation modifie spécifiquement. Pour nous assurer que cette phosphorylation n'est pas particulière à telle ou telle souche clonée de cellules, nous avons vérifié que des cellules non clonées infectées par *T p parva* (Muguga) et des cellules clonées infectées par *T p parva* (Marikébuni) phosphorylent les protéines aussi vite que la lignée de l'expérience de base.

Ce que nous cherchons maintenant à savoir, c'est à quoi est due cette phosphorylation: au déclenchement d'une enzyme spécifique de la cellule de l'hôte, ou à la présence d'une enzyme du parasite? Nous travaillons aussi à caractériser les aminoacides de la cellule de l'hôte qui sont les cibles de la phosphorylation, ainsi que les gènes qui codent les kinases et autres agents de transformation.

Nous avons aussi appris qu'infectés par des theilérias, les lymphocytes T clonés des bovins produisent un facteur, analogue au facteur de croissance des cellules T, qui peut soutenir la croissance des clones de lymphocytes T bovins non infectés qui dépendent du facteur de croissance. Cela donne à penser que la croissance autonome des lymphocytes infectés par les theilérias est peut-être due à la production, par l'organisme de l'hôte, d'un facteur de croissance des cellules T ou d'autres facteurs de croissance de type hormonal.

Nous nous sommes servis d'anticorps monoclonaux pour essayer de distinguer des marqueurs antigéniques, à la surface des cellules, qui soient spécifiques des cellules infectées par les theilérias. L'obstacle principal devait être, pensions-nous, la concurrence d'antigènes immunodominants—normaux ou déclenchés par la cellule de l'hôte, antigènes qui nous empêcheraient de reconnaître les antigènes plus faibles spécifiques des theilérias. Nous nous sommes occupés, en 1985, de trouver des techniques qui bloqueraient la production d'anticorps contre ces autres antigènes, améliorant ainsi la spécificité des anticorps monoclonaux contre les cellules infectées par les theilérias. La méthode la plus prometteuse consiste à inoculer à des souris à la fois des cellules infectées par *T parva* et un énergique antisérum contre les blastocytes non infectés du même animal.

Plusieurs expériences nous ont montré des changements antigéniques sur les cellules T bovins quand il y a infection par *T parva*, mais certains lymphocytes non infectés expriment eux aussi ces antigènes. Deux anticorps monoclonaux—J5 et J6—décèlent un antigène de lymphocyte T qui accompagne la prolifération des cellules. Des cellules T, stimulées par le mitogène concanavaline A ou par des souches de cellules prises à d'autres animaux, expriment cet antigène. D'ailleurs toute les cellules infectées par *T parva*, y compris des cellules qui semblent être des cellules B, expriment aussi cet antigène. Cela veut dire que les cellules transformées par les theilérias expriment un antigène qui accompagne la prolifération des cellules T, quelle que soit leur origine.

Deux autres anticorps monoclonaux, BT3/8.12 et J3, reconnaissent une souspopulation de lymphocytes T non infectés, tout en reconnaissant aussi toutes les cellules infectées par *T parva*. Grâce aux techniques récemment mises au point pour produire des clones de cellules T, nous avons pu produire deux populations distinctes de cellules T non infectées, l'une avec le déterminant antigénique que reconnaissent BT3/8.12 et J3, l'autre sans lui. Nous avons cultivé en présence de sporozoïtes de *T parva* une lignée des cellules dépourvues de l'antigène, et avons observé le pourcentage des cellules où nous constations la présence de schizontes et celle de l'antigène. Nous avons constaté que les schizontes apparaissent les premiers, et l'antigène deux jours plus tard. L'antigène

n'est pas indispensable à la multiplication des cellules; nous ignorons encore son vrai rôle.

Nous continuons à nous servir d'anticorps monoclonaux pour déterminer les changements antigéniques qui se produisent à la surface des lymphocytes infectés par les theilérias. Nous voudrions savoir quels sont ceux de ces changements qui se rapportent directement à des réactions immunitaires qui pourraient protéger l'hôte contre l'infection.

## RÉACTIONS IMMUNITAIRES CONTRE LES CELLULES INFECTÉES PAR DES SCHIZONTES

Les bovins sensibles à la maladie qui subissent une infection aiguë de *T parva* produisent des lymphocytes cytolytiques (tueurs de cellules) qui sont capables de tuer des cellules de l'hôte, qu'elles soient infectées ou non. Ces cellules tueuses jouent probablement un rôle important comme agents de la destruction du système immunitaire, destruction qui est un trait marquant de cette maladie. En revanche, les bovins qui ont acquis l'immunité contre la FCO produisent des lymphocytes cytolytiques qui ne tuent que les cellules infectées par des schizontes de *Theileria* (figures 1 et 2). Dans leur cas, les cellules tueuses reconnaissent, à la surface de la cellule envahie, un antigène provoqué par les parasites.

Bien que nous ayons identifié, à la surface des sporozoïtes, plusieurs antigènes qui suscitent des réactions immunitaires, tant *in vitro* que *in vivo*, nous n'avons pas encore complètement déterminé les changements antigéniques qui se produisent à la surface des lymphocytes infectés par des schizontes. Les dispositifs que suppose l'immunité d'origine cellulaire sont complexes eux aussi, car plusieurs sortes de cellules du système immunitaire y jouent un rôle. Nous avons, en 1985, beaucoup avancé la mise au point de systèmes et de réactifs qui, *in vitro*, reconnaissent spécifiquement les différentes sortes de cellules qui entrent en jeu dans la réaction immunitaire. Grâce à nos nouvelles techniques de clonage des lymphocytes, nous avons d'autre part mieux compris la marche de la réaction immunitaire contre les cellules infectées par des schizontes de *Theileria*.

Les cellules cytolytiques appartiennent à une sous-population particulière de lymphocytes T (lymphocytes dont le thymus est l'origine). Un trait notable des lymphocytes T est qu'ils réagissent aux antigènes étrangers qui se présentent à la surface d'autres cellules en même temps que des molécules autologues normales qu'on appelle antigènes d'histocompatibilité majeure (HCM). Comme les molécules d'HCM diffèrent d'un individu à l'autre de la même espèce, les lymphocytes T ne peuvent reconnaître un antigène étranger qu'à la surface d'une cellule du même animal, ou d'un animal qui se trouve être doté de la molécule d'HCM qui convient. C'est ce qu'on appelle la restriction d'HCM, et l'on dit souvent de telles ou telles cellules T qu'elles subissent la restriction de telle ou telle molécule d'HCM. Comme ces cellules T à restriction d'HCM jouent, de l'avis général, un grand rôle dans l'instauration de l'immunité contre la forme schizonte des theilérias, nous faisons depuis deux ans un gros effort pour trouver des réactifs qui nous permettent d'identifier les lymphocytes T et de définir les diverses molécules d'HCM.

### Définition des types de cellule

Nous avons, à l'ILRAD, produit des anticorps monoclonaux qui reconnaissent les différentes sortes de leucocytes bovins—les cellules qui agissent dans la réaction immunitaire du bétail. Ce sont les lymphocytes T, les lymphocytes B, les monocytes/macrophages, et les granulocytes. Nous avons surtout cherché, en 1985, à définir des sous-populations fonctionnellement importantes de lymphocytes T et des populations de monocytes/macrophages. Une fois qu'on a pu identifier des populations de cellules bovines, on peut s'assurer du rôle qu'elles

Figure 1. Micrographie électronique d'un lymphocyte T cytolytique (T) fixé à la surface d'un lymphocyte parasité (P). La flèche indique le schizonte de *Theileria* à l'intérieur de la cellule parasitée

jouent dans la réaction aux cellules infectées par les theilérias.

Nous avons d'autre part obtenu plusieurs anticorps monoclonaux qui reconnaissent les antigènes d'HCM des bovins. Il y a deux classes principales de ces antigènes: ceux de la classe I s'expriment sur la plupart des sortes de cellule, ceux de la classe II s'expriment surtout sur les cellules du système immunitaire. La figure 3 présente les plus importants des anticorps monoclonaux identifiés à l'ILRAD en 1984 et 1985, avec ce que nous jugeons être leur spécificité.

Deux des anticorps monoclonaux mis à l'épreuve à l'ILRAD—IL-A26 et IL-A27—reconnaissent tous les lymphocytes T arrivés à maturité. Les anticorps IL-A11 et IL-A12 reconnaissent une sous-population de lymphocytes T qui trouvent leur cible dans les cellules qui changent d'antigène en présence d'antigènes de la classe II d'HCM. Un autre anticorps—IL-A17—identifie la plupart des cellules T qui trouvent leur cible dans les cellules qui changent d'antigène en présence d'antigènes de la classe I d'HCM (figure 4). L'étude fonctionnelle que nous avons faite des populations de cellules qu'identifient ces anticorps, ainsi que l'analyse biochimique des molécules qui sont leur cible, nous donnent à penser qu'ils distinguent les deux principales sous-populations de cellules T des bovins: l'une dont le rôle prédominant est d'aider au déclenchement des réactions immunitaires (ce sont celles que reconnais-

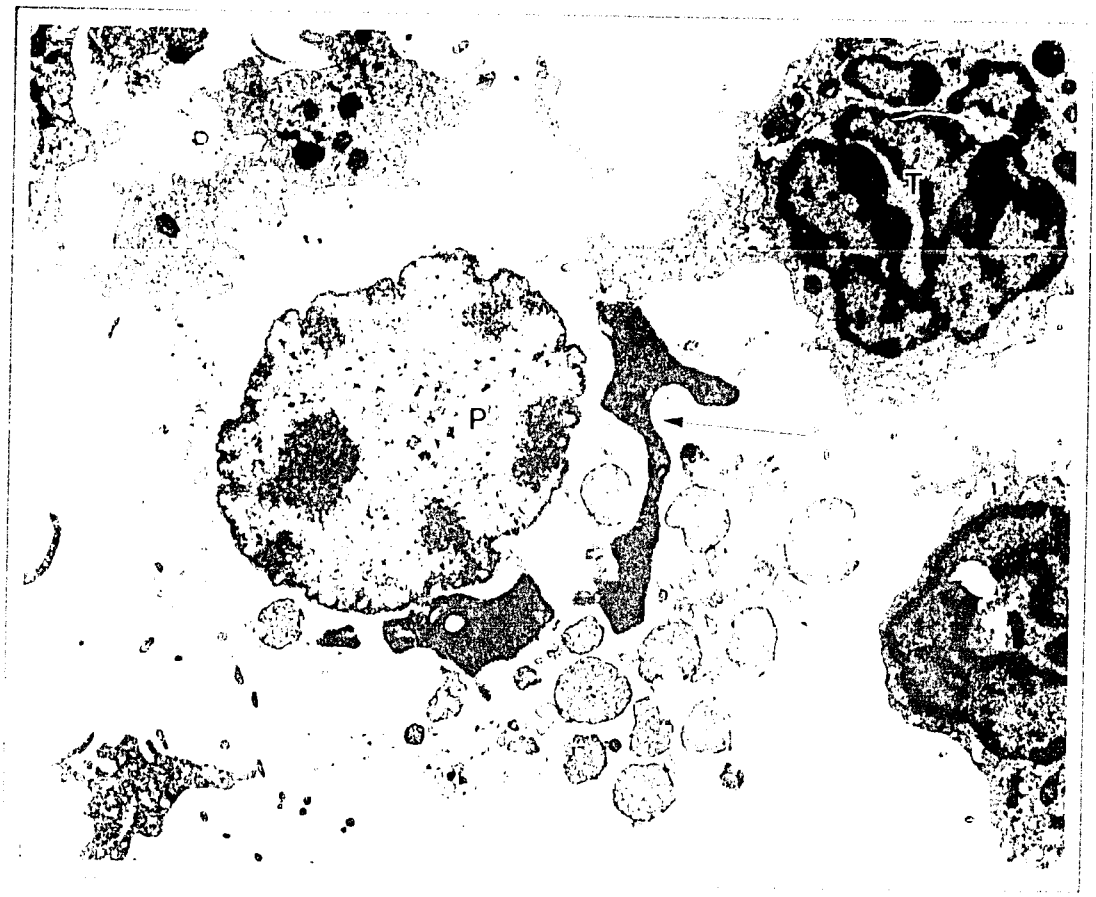



Figure 2. Micrographie électronique de la destruction d'un lymphocyte parasité (P) par un lymphocyte T cytolytique (T). La flèche indique un schizonte de *Theileria* à l'intérieur de la cellule parasitée.

sent IL-A11 et IL-A12), l'autre qui est l'agent principal de la cytolyse (celles que reconnaît IL-A17).

Les lymphocytes auteurs de la cytolyse des cellules infectées par les theilerias appartiennent à la sous-population qu'identifie l'anticorps monoclonal IL-A17; elles subissent, comme on pouvait s'y attendre, la restriction des molécules d'HCM de la classe I. Nous avons même pu constater que l'anticorps IL-A17 empêchait la réaction cytolytique de certains lymphocytes T, ce qui voudrait dire que la molécule que reconnaît IL-A17 joue un grand rôle dans la reconnaissance, par le lymphocyte cytolytique, de la cellule parasitée et dans son attachement à elle.

Les sporozoïtes de *T parva* peuvent infecter avec la même fréquence les deux sous-populations de cellules que reconnaissent les anticorps monoclonaux IL-A17 et IL-A12. Soit IL-A17, soit IL-A12 reconnaissent la plupart des clones de cellules T infectées par les theilerias; c'est donc que la majorité des lymphocytes que le parasite infecte et transforme viennent de ces deux sous-populations.

Nous avons aussi produit, en 1985, trois anticorps monoclonaux qui reconnaissent les monocytes macrophages des bovins. Ils reconnaissent, à ce qu'il nous semble, des cellules à divers degrés de maturation. Nous travaillons actuellement à déterminer les propriétés fonctionnelles de ces trois anticorps.

| Sorte de cellules | Anticorps monoclonal | Spécificité | Antigène Désignation | Antigène Poids moléculaire en K daltons |
|---|---|---|---|---|
| Cellules T | IL-A26 | Toutes les cellules T | BoT2 | 55 |
| | IL-A27, IL-A28 | Toutes les cellules T arrivées à maturité | BoT3 | ? |
| | IL-A11, IL-A12 | Cellules T restreintes par HCM classe II | BoT4 | 52, 55 |
| | IL-A17 | Cellules T restreintes par HCM classe I | BoT8 | 34, 35 |
| Monocytes/ granulocytes | IL-A22, IL-A24 | Monocytes/macrophages et granulocytes | | ? |
| | IL-A23 | Sous-population de monocytes/macrophages | | ? |
| | IL-A25 | Macrophages pulmonaires | | ? |
| Molécules HCM | IL-A19 | Déterminant monomorphique sur molécules classe I | | 12, 44 |
| | IL-A1, IL-A4 IL-A5, IL-A7 IL-A8, IL-A9 IL-A10, IL-A13 | Déterminants polymorphiques sur molécules class I | | 12, 44 |
| | IL-A21 | Déterminant monomorphique | | 26, 34 |
| | J11 | sur molécules class II | | 29, 31 |

Figure 3. Anticorps monoclonaux, obtenus à l'ILRAD, qui reconnaissent telle ou telle classe de leucocytes bovins. Nous avons obtenu la plupart de ces anticorps en 1984 et 1985.

### Définition d'antigènes d'HCM

Les gènes codeurs d'antigènes d'HCM occupent plusieurs sites (ou *loci*) sur un chromosome bovin. En comparant, dans deux réunions internationales de travail, une série d'alloantisérums, on a identifié 17 spécificités d'HCM de la classe I que les gènes—pense-t-on—codent en un *locus* donné: le site de l'antigène lymphocytique bovin (ou ALB, en anglais BoLA) A. Nous nous sommes associés en 1983 à cette recherche internationale; cette opération poursuivie en collaboration avait à l'origine le patronage de l'Overseas Development Administration (ODA) du Gouvernement britannique, par l'intermédiaire de l'Animal Breeding Research Organisation (à Edimbourg) du Food Research Council.

Depuis 1984, nous avons classé selon leurs déterminants d'HCM de la classe I 1.000 Borans (*Bos indicus*) du troupeau de reproducteurs de l'ILRAD; nous l'avons fait au moyen d'antisérums et d'anticorps monoclonaux. Notre but est de comparer les antigènes d'HCM du troupeau boran avec les antigènes définis par les réunions internationales de travail, en vue de la sélection de sujets propres à l'expérimentation, et aussi de la formation de groupes reproducteurs qui auraient des descendants de tel ou tel type d'HCM. Nous avons découvert chez ces 1.000 Borans cinq antigènes clairement définis qui diffèrent des antigènes reconnus par les groupes internationaux de travail. Ils sont, semble-t-il, spécifiques de *Bos indicus*: on les trouve fréquemment chez les Borans de l'ILRAD, on ne les trouve jamais chez l'échantillon de *Bos taurus* que nous avons contrôlé. Un important auxiliaire de cette recherche a été notre mise au point de pro-

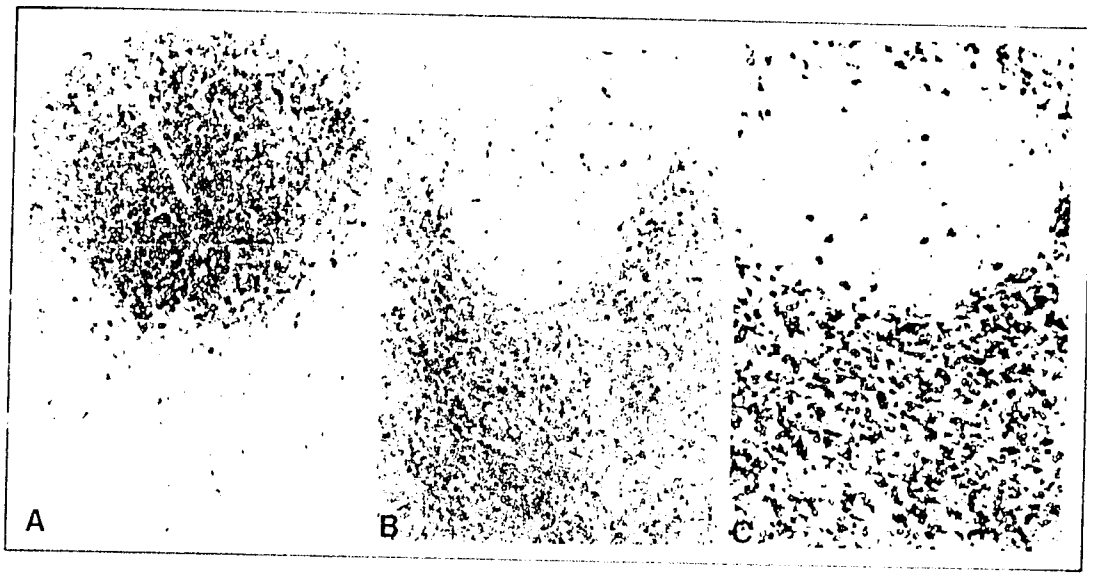



Figure 4 Cryosections d'un ganglion lymphatique normal de bovin coloré par la technique de l'immunoperoxydase, avec des anticorps monoclonaux qui réagissent (A) avec tous les lymphocytes B, (B) avec tous les lymphocytes T, (C) avec une certaine sous population de lymphocytes T

grammes d'ordinateur que nous avions spécialement conçus pour l'analyse des antigènes d'HCM des bovins. C'est en collaboration avec l'Université de Strathclyde (Grande Bretagne) que nous poursuivons cette recherche; plusieurs autres laboratoires nous ont fait part de leur désir d'employer eux aussi ces programmes.

Avec des clones de cellules T ainsi qu'avec des antisérums et des anticorps monoclonaux, nous avons analysé de très intéressants antigènes de la classe I. Nous avons d'autre part cultivé des clones de cellules T qui reconnaissent des antigènes d'HCM de la classe II; c'est un grand pas en avant, car cette technique est maintenant le meilleur moyen que nous ayons de définir les différences qu'il y a entre un bovin et un autre.

Nous avons obtenu nos antigènes d'HCM de bovins en précipitant des lysats de cellules avec des antisérums et des anticorps monoclonaux, et en analysant le produit selon son poids moléculaire et son point isoélectrique. Nous avons décelé plusieurs classes distinctes de molécules de la classe I. Les recherches commencées en 1984 nous ont amenés à comparer les antigènes d'HCM de la classe I qu'il y a sur les cellules bovines selon qu'elles sont ou non infectées par des théilérias, mais nous n'avons jusqu'ici pas découvert de changements biochimiques qui correspondraient à l'infection par des théilérias.

Nous avons, en 1985, criblé des cellules T cytolytiques, prélevées sur neuf sujets attaqués par *T parva*, avec des batteries de cellules parasitées qui étaient avec elles en harmonie ou non selon six antigènes d'HCM codés au *locus* A. Ces cellules cytolytiques n'ont tué que les cellules-cibles avec lesquelles elles partageaient des antigènes du *locus* A. Sur les six antigènes mis à l'épreuve, trois ont constamment joué un plus grand rôle dans le déclenchement des réactions cytolytiques. Voici ce que semblent indiquer ces constatations: les changements que le parasite provoque à la surface de la cellule de l'hôte ont une préférence pour certaines molécules d'HCM, ou bien stimulent plus efficacement l'immunité quand ces molécules sont présentes.

## Réactions immunitaires d'origine cellulaire

On maintient facilement dans un état de prolifération, *in vitro*, des lymphocytes T bovins infectés par des schizontes de *Theileria*. Pour étudier les réactions immunitaires d'origine cellulaire chez les bovins, nous avons mis au point des techniques de culture *in vitro* qui nous permettent d'avoir des populations de lymphocytes T bovins non infectés qui réagissent spécifiquement contre les cellules infectées par des theilérias. Nous commençons par prendre des lymphocytes T à un animal immun et les mettre en contact, en une réaction leucocytaire mixte, avec des cellules parasitées irradiées qui proviennent du même animal. Etant irradiées, les cellules parasitées (ou cellules stimulatrices) ne peuvent pas proliférer; mais les lymphocytes T (ou cellules réactrices) peuvent proliférer sous l'action de l'antigène des cellules parasitées. Si nous ajoutons à plusieurs reprises des cellules stimulatrices à cette culture, cela accroît notablement la proportion des lymphocytes T qui réagissent contre les stimulatrices parasitées. Nous pouvons alors cloner tel ou tel lymphocyte T de ces populations, en limitant la dilution en présence des facteurs de croissance qui conviennent. En les stimulant à plusieurs reprises et en ajoutant des facteurs de croissance, nous les maintenons en prolifération, et nous obtenons des populations clonées. Nous avons aussi – avec d'autres objectifs en vue – produit des populations clonées de lymphocytes T en les stimulant à plusieurs reprises avec le mitogène concanavaline A et en les entretenant en prolifération avec un facteur de croissance des cellules T.

Nous avons trouvé deux principales sortes de lymphocytes T clonés qui réagissent aux cellules infectées par des theilerias. 1. Les cellules, sous restriction d'antigènes d'HCM de la classe I, qui tuent les cellules parasitées qu'elles visent, elles sont spécifiques de telle ou telle lignée de *Theileria*. Ces clones appartiennent à la sous-population de lymphocytes T que reconnaît l'anticorps monoclonal IL-A17.
2. Les cellules, sous restriction d'antigènes d'HCM de la classe II, qui prolifèrent en présence des cellules infectées qu'elles visent, mais ne sont pas cytolytiques. Ces clones appartiennent à la sous-population de lymphocytes T que reconnaît l'anticorps monoclonal IL-A11.

Les clones cytolytiques de lymphocytes T que restreignent les molécules d'HCM de la classe I et sont spécifiques de telle ou telle lignée de *Theileria* (type 1) sont presque certainement analogues aux cellules produites *in vivo* par l'animal immun. Nous nous sommes servis de ces clones pour examiner le rôle de tel ou tel antigène d'HCM dans le déclenchement de la réaction immunitaire, et examiner aussi les différences entre lignées de *Theileria*. Nous avons eu grâce à eux la première preuve concluante que la réaction cytolytique des lymphocytes T varie selon la lignée de *Theileria* qui est en cause. Cette constatation nous confirme dans l'idée que l'antigène présent à la surface de la cellule parasitée est le produit du parasite.

Les clones qui prolifèrent par réaction aux cellules parasitées, mais ne sont pas cytolytiques (type 2) et sont sous restriction d'antigènes d'HCM de la classe II, sont eux aussi spécifiques de telle ou telle lignée de *Theileria*. Nous nous en servons pour étudier le rôle des antigènes d'HCM de la classe II dans la réaction immunitaire contre la theilériose, et aussi leur spécificité à l'égard de telle ou telle lignée. Nous examinons aussi leurs propriétés fonctionnelles, par exemple leur rôle éventuel d'auxiliaires des cellules cytolytiques, ou de producteurs de facteurs solubles dont l'immunité dépendrait beaucoup.

Les clones de lymphocytes T cytolytiques spécifiques de *Theileria* ne sont pas seulement de précieux réactifs pour discerner le caractère hétérogène des lignées de *Theileria*, car ils pourraient nous aider aussi à identifier l'antigène (ou les antigènes) produit par le parasite à la surface de la cellule infectée. Nous travaillons actuellement à

définir cet antigène ou ces antigènes en examinant la façon dont les clones de lymphocytes T qui sont spécifiques des theiléria réagissent à des cellules non infectées que nous avons ou bien transfectées avec des gènes de *Theileria*, ou bien mis en incubation avec des sous-unités antigéniques de *Theileria*.

Une autre de nos recherches de 1985 a consisté à comparer les réactions cytolytiques de cellules de buffle avec celles des cellules bovines. Les lymphocytes du sang périphérique d'un buffle ont manifesté une forte réaction cytolytique spécifique quand nous les avons cultivés *in vitro* avec des cellules prises au même animal et infectées de *Theileria*: ils ont tué jusqu'à 100% des cellules infectées, même quand le rapport des cellules cibles aux cellules cytolytiques était de 7,5 pour 1. Disons pourtant que nous n'avons observé cette réaction que si les lymphocytes venaient d'un buffle autrefois infecté de theilériose. Les cellules prises à un buffle indemne n'ont pas manifesté de réaction cytolytique à l'égard de cellules autologues infectées. Nous travaillons actuellement à analyser les populations de cellules et les dispositifs qui jouent un rôle dans la résistance des buffles à la theilériose, et à les comparer à ce que nous savons maintenant de ce phénomène chez les bovins.

## EPIDEMIOLOGIE, IMMUNISATION EXPERIMENTALE

Nos études épidémiologiques sur la FCO ont eu pour principal objectif de trouver des méthodes pour distinguer les sous-espèces et lignées de *Theileria*. Il s'est agi au début de criblages sérologiques: nous avons employé des anticorps monoclonaux antischizontes pour caractériser des isolats de populations de *Theileria* prélevées sur des bovins domestiques et sur le buffle d'Afrique. En 1985, nous nous sommes en outre préoccupés d'obtenir des clones de souches et sondes d'ADN de *Theileria*, pour caractériser les lignées de *T parva*.

Nous procédons à des essais d'immunisation contre la FCO, en collaboration avec le Ministère kényen de l'agriculture et du développement de l'élevage et avec la Société du progrès agricole. La technique de ces essais a pour base l'infection par des sporozoïtes vivants, et en même temps le traitement avec un antibiotique à effet prolongé (oxytétracycline).

## CARACTERISATION DES LIGNEES

Pour mettre au point, contre la FCO, des procédés d'immunisation qui protègeront efficacement le bétail sur le terrain, il faut que nous puissions identifier les sous-espèces et lignées de *Theileria* et déterminer entre quelles lignées du parasite il y a protection croisée. Nous avons essayé de plusieurs méthodes, à l'ILRAD, pour caractériser avec précision les isolats de *Theileria*. Nous avons tiré un grand nombre d'isolats de bovins ou de tiques infectés du Kénya et d'autres pays, et les avons cryoconservés au Laboratoire sous la forme de stabilats de cellules lymphoïdes infectées par des sporozoïtes ou par des schizontes. Nous avons doublement caractérisé les diverses souches: *in vitro* et par contrôle de l'immunité croisée chez des hôtes bovins.

Pour caractériser les lignées *in vitro*, nous avons pris comme principale base la reconnaissance des antigènes des schizontes par tel or tel anticorps monoclonal. Nous pensions au début que nous pourrions nous servir de ce genre-là de criblage sérologique pour classer les isolats de *Theileria* en un nombre limité de groupes ou lignées antigéniques. Arrivé 1985, comme nous produisions de nouveaux anticorps monoclonaux et contrôlions davantage d'isolats, nous nous sommes aperçus que la diversité antigénique est plus grande que nous n'avions pensé. Il faut procéder à des analyses et des epreuves de protection croisée de nature plus complexe si nous voulons arriver à définir le

rapport qu'il y a entre les profils dessinés par les anticorps monoclonaux et les propriétés immunologiques.

Nous envisageons actuellement l'emploi de sondes d'ADN pour caractériser les sous-espèces et lignées de *Theileria*. Il a fallu tout d'abord trouver des techniques pour purifier l'ADN des theilérias. Nous mettons actuellement au point une méthode simplifiée pour tirer des piroplasmes de *Theileria* de l'ADN extrêmement purifié. Nous avons extrait l'ADN de sang infecté des piroplasmes de quatre souches de *T p parva*: Mariakani, Muguga, Kilifi et Marikébuni. En comparant le profil des enzymes de restriction, nous avons constaté plusieurs différences entre la lignée de Muguga et celle de Mariakani. Chose intéressante, les différences sont moins nombreuses entre le profil de Muguga et celui de Kilifi, ce qui concorde avec le profil des anticorps monoclonaux et les études cliniques, d'où il apparaît qu'il y a protection croisée entre ces deux souches.

Nous avons constitué deux banques d'expression génomique avec l'ADN de *T p parva* Muguga, et une avec l'ADN de *T p parva* Mariakani. Il y a dans ces banques des séquences complètes de gènes, mais aussi des fragments des régions intermédiaires entre les gènes. Nous procédons actuellement à des essais d'hybridation pour voir quelles sont les séquences qui s'hybrident différemment dans les deux souches. Elles nous serviront à identifier, dans les différents génomes, les séquences à répétition et les séquences à un seul exemplaire.

Il ressort de plusieurs études que la diversité antigénique des theilérias est peut-être limitée sur le terrain, là où le cycle vital du parasite se perpétue par transmission des bovins aux tiques. Mais, là où le bétail entre en contact avec le buffle d'Afrique, la situation devient beaucoup plus complexe. *T p lawrencei*, la sous-espèce de *Theileria* dont le buffle sauvage est presque toujours porteur, a deux caractéristiques: une faible parasitémie (schizontes et piroplasmes) chez le bétail, mais une forte mortalité. Nous avions commencé en 1984 une étude en collaboration sur la diversité antigénique d'isolats de *T p lawrencei* et sur la façon d'améliorer les procédés actuels employés pour distinguer cette sous-espèce de *T p parva*. Nous avons reçu du Laboratoire kényen de recherche vétérinaire et de l'Institut kényen de recherche agricole des lignées de cellules infectées par des schizontes; nous les avons criblées au moyen de 20 anticorps monoclonaux antischizontes obtenus contre ces deux sous-espèces. A la fin de 1985, nous avions criblé plus de 50 lignées de cellules de buffle infectées par les theilérias, et 50 lignées de cellules bovines que nous avions soit infectées *in vitro* avec les sporozoïtes pris à des tiques qui avaient piqué des buffles, soit isolées de bovins qui avaient été en contact avec des buffles.

Nous avons constaté une diversité antigénique marquée, non seulement dans les isolats pris à différents animaux de la même station, mais aussi dans différents isolats pris au même animal à une semaine ou un mois d'intervalle. Ce qui pourrait expliquer cette frappante différence antigénique, c'est que nous trouvons dans des isolats pris à des buffles des populations mixtes de *Theileria*. Nous avons par exemple constaté dans une lignée de cellules lymphoïdes infectées prise à un seul buffle, après clonage par dilution limitative, au moins quatre populations de *Theileria*, antigéniquement distinctes. Une fois clonées, ces populations ont conservé leur profil antigénique distinctif pendant huit mois de culture *in vitro*.

Il pourrait y avoir une autre explication de cette diversité antigénique des infections par *T p lawrencei*: c'est que cette sous-espèce subirait un changement antigénique au cours de l'infection qu'elle provoque chez les buffles. Pour étudier cette possibilité, nous avons procédé à une étude de deux ans et demi, en collaboration avec le Laboratoire kényen de recherche vétérinarie et avec l'appui partiel du Gouvernement néerlandais. Cette étude s'est terminée en 1985. Nous avons infecté en même temps, avec un seul stabilat de *T p lawrencei*, un

buffle en situation expérimentale et un bœuf. Le bœuf a manifesté de graves signes cliniques d'infection par *T p lawrencei*; nous l'avons traité à la parvaquone (Clexon de Wellcome). Le buffle est devenu porteur du parasite. Nous avions isolé du bœuf, avant son traitement, une lignée de cellules infectées par les schizontes; du buffle, nous avons tiré des cultures de tiques et de cellules, à intervalles réguliers. En les criblant avec une batterie d'anticorps monoclonaux, nous avons constaté des différences antigéniques entre les cellules infectées prises au buffle à des moments différents, et aussi entre les cellules infectées que nous prenions au buffle et celles que nous avions prises au bœuf.

Parce qu'il ne se laisse voir qu'un petit nombre de theilérias dans les infections par *T p lawrencei*, nous ne pouvons pas obtenir assez d'ADN de piroplasmes pour l'étude génomique de cette sous-espèce. Nous avons tiré de l'ADN de lignées de cellules de buffle infectées par des schizontes, et nous allons cribler ces préparations avec des sondes génomiques tirées de l'ADN des piroplasmes de *T p parva*. Notre objectif est de trouver des sondes qui distinguent les deux sous-espèces de *Theileria*.

Nous ne pouvons pas affirmer de façon concluante la possibilité d'une variation antigénique dans les infections par *T p lawrencei* tant que nous ne pourrons pas exclure l'idée d'infections mixtes. Nous devrions pour cela infecter avec des parasites clonés des bœufs et des buffles exempts de *Theileria*, et contrôler ensuite la diversité antigénique d'isolats pris à intervalles réguliers pendant un certain temps. Nous travaillons actuellement beaucoup à trouver des techniques qui nous permettraient d'obtenir des clones de *Theileria* dérivés sans doute possible d'un seul individu de l'espèce. Nous étudions actuellement trois méthodes à cet effet: isoler les sporozoïtes d'un seul acinus infecté de tique; implanter un petit nombre de kinètes de *Theileria* (le kinète est la forme qui se développe dans le jabot de la tique et passe ensuite dans la glande salivaire) dans une tique non infectée; infecter des lymphocytes bovins avec des sporozoïtes isolés obtenues par dilution limitative, et cloner ensuite la lignée de cellules infectées.

Le taux d'infection par *Theileria* est extrêmement variable chez les tiques, ce qui rend difficile de repérer des tiques qui n'ont qu'un acinus infecté. Dans l'enquête menée en collaboration en 1985, nous avons examiné la glande salivaire de tiques qui avaient piqué un buffle infecté; nous avons broyé les glandes salivaires dont un seul acinus était infecté, pour répandre dans le milieu de culture les sporozoïtes de *T p lawrencei*; nous avons inoculé cette suspension à trois bœufs boran. Nous avons décelé des schizontes de *Theileria*, pendant peu de temps, chez deux de ces bœufs, mais nous n'avons pas vu de piroplasmes. Les trois sujets ont tous survécu à l'attaque, et tous les trois avaient des anticorps antitheilérias quatre semaines après le début de l'infection. Nous avons attaqué les trois bœufs, guéris, et deux témoins sensibles à la maladie, avec un stabilat de *T p lawrencei* tiré de tiques qui avaient piqué le même buffle infecté, les deux témoins et un des sujets guéris sont morts d'une infection typique par *T p lawrencei*. Les deux bœufs chez qui nous avions observé des schizontes lors de la première attaque ont guéri tous les deux.

Ce que démontre cette expérience, c'est qu'on peut infecter des bovins sensibles par l'inoculation directe des sporozoïtes qui proviennent d'un seul acinus de tiques—encore que l'infection ait été passagère. Qu'un des bœufs ait été sensible à une attaque homologue était peut-être dû à des différences antigéniques entre les sporozoïtes inoculés, qui provenaient d'un acinus unique, et le stabilat, qui ne résultait pas d'une pareille sélection. Il se pourrait aussi que la dose employée pour l'infection n'ait pas suffi à susciter une réaction immunitaire de protection. Nous avons procédé à cette enquête en collaboration avec l'Institut kényen de recherche agricole et le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire.

Une autre de nos recherches de 1985 avait pour objectif de constituer des clones de *Theileria* en transplantant dans des tiques non infectées un petit nombre de kinètes. Nous avons pris sur des tiques infectées par *T p parva* (Muguga) un mélange d'hémolymphe (équivalent du sang) et du contenu du jabot; nous l'avons dilué et avons injecté cette dilution dans des tiques indemnes. Nous avons évalué le nombre des kinètes de chaque inoculation en analysant le mélange résiduel, et nous avons groupé les tiques soumises à cette inoculation selon le nombre des kinètes que, selon nos calculs, elles avaient reçus. Après incubation, nous leur avons fait piquer des lapins pendant quatre ou cinq jours; puis nous avons disséqué et coloré leur glande salivaire, en comptant pour chaque tique le nombre des acini infectés.

Il y a eu beaucoup de mortalité chez les tiques de cette expérience, en partie sans doute à cause de la brutalité de l'inoculation. Malgré cela, la transplantation de 18 à 138 kinètes a donné, chez beaucoup des tiques qui survivaient, un taux d'infection des glandes salivaires qui allait d'un acinus à cinq. Cette technique de transplantation des kinètes nous a permis d'obtenir un faible taux d'infection des acini de façon plus sûre que si les tiques s'étaient infectées de façon naturelle, en piquant un hôte.

En cherchant à obtenir des clones de *Theileria* par dilution limitative, nous avons surtout employé des techniques qui consistent à infecter avec un très petit nombre de sporozoïtes des lignées clonées de cellules lymphoïdes bovines. Nous diluons des sporozoïtes en série, et nous les mettons en incubation avec un nombre donné de lymphocytes, en présence du facteur de croissance des cellules T. Au bout de quatre jours, nous supprimons le facteur de croissance, et toutes les cellules non infectées meurent. Nous reclonons alors les cellules infectées. Notre but est de produire des lignées de cellules clonées qui proviennent d'un seul lymphocyte infecté par un seul sporozoïte.

## IMMUNISATION EXPERIMENTALE

Nous avons procédé en 1985 à un vaste essai sur le terrain, à Kiswani, près de la côte kényenne, en collaboration avec le Ministère de l'agriculture et du développement de l'élevage et avec la Société du progrès agricole. Nous avions pour objectif de déterminer l'effet que l'immunisation contre la FCO, combinée avec différents traitements par acaricide, a sur la productivité du bétail de boucherie.

Nous avons immunisé 80 bœufs boran de deux ans, par infection et traitement contre la FCO, au moyen d'une souche locale de *T p parva*, celle de Marikébuni. Nous avons pris comme témoins 80 bovins similaires, que nous n'avons pas immunisés. Nous avons gardé neuf mois toutes ces bêtes dans un endroit où la FCO est endémique, à partir de mai 1985. Nous les avions réparties en quatre groupes de 20 bêtes immunisées et quatre groupes de 20 témoins, et il y avait quatre régimes différents de lutte contre les tiques. Voici ces régimes.

1. Nous avons aspergé 40 bœufs avec des acaricides deux fois par semaine.
2. Nous avons aspergé 40 bœufs avec des acaricides toutes les trois semaines.
3. 40 bœufs portaient à l'oreille une fiche acaricide.
4. 40 bœufs sont restés sans traitement contre les tiques.

Nous avons examiné toutes les bêtes régulièrement; nous avons consigné chaque semaine leur poids, le nombre de leurs tiques, et leur hématocrite (pour juger de l'anémie). Nous avons contrôlé chaque mois dans le sérum de toutes les bêtes la présence d'anticorps contre *T parva*, et nous avons pris leur température tous les deux jours. Nous avons examiné tous les jours des frottis du sang et des ganglions lymphatiques de toutes les bêtes atteintes de fièvre, et nous avons traité avec un produit antitheilérial la plupart des bêtes non immunisées qui souffraient de la FCO. A la fin de cette période de neuf mois, nous avons comparé ces groupes (selon les quatre traitements) quant

| Immunisation, traitement à l'acaricide | Nombre des bêtes | Nombre des survivants | Gain de poids des survivants (moyenne, en kg) |
|---|---|---|---|
| Bêtes immunisées | | | |
| Aspergées deux fois par semaine | 20 | 20 | 67,6 |
| Aspergées toutes les trois semaines | 20 | 19 | 51,2 |
| Fiche acaricide | 20 | 19 | 62,6 |
| Sans acaricide | 20 | 19 | 55,6 |
| Total | 80 | 77 | 59,2 |
| Non immunisées | | | |
| Aspergées deux fois par semaine | 20 | 19 | 54,2 |
| Aspergées toutes les trois semaines | 20 | 15 | 38 8 |
| Fiche acaricide | 20 | 16 | 34,2 |
| Sans acaricide | 20 | 14 | 41,1 |
| Total | 80 | 64 | 42,1 |

Figure 5. Productivite (vie, engraissement moyen) de bœufs boran, les uns immunises, les autres non, tenus neuf mois dans une zone de la côte kényenne ou la FCO est endémique, selon différents regimes de traitement acaricide.

à l'efficacité de l'immunisation contre la FCO et à celle des divers régimes de lutte contre les tiques.

Sur les 80 bœufs immunisés, 18 ont pris la FCO. Sur ces 18, 15 ont guéri par eux-mêmes, trois sont morts; nous n'en avions traité aucun. Parmi les 80 bœufs non immunisés, nous avons constaté 58 cas de FCO; nous en avons traité 44, soit avec de la parvaquone, soit avec de l'halofuginone; nous en avons laissé 14 sans traitement. Quinze sont morts de la FCO. Les bœufs immunisés ont mieux grossi que les témoins, et cela sous les quatre régimes de traitement acaricide. La figure 5 détaille ces résultats.

Une des raisons qui ont jusqu'ici empêché de généraliser l'immunisation contre la FCO par infection et traitement, c'est qu'il n'existait pas de moyen sûr de quantifier *in vitro* les sporozoïtes de *Theileria*. Nous ne pouvons pas à l'heure actuelle normaliser le nombre des sporozoïtes inoculés au cours de l'immunisation. Nous ne pouvons pas non plus comparer le caractère infectieux ou la virulence des souches de *Theileria*, car les différences que nous constatons peuvent être dues à des variations—que nous ignorons—dans le nombre des sporozoïtes inoculés.

Nous essayons actuellement une méthode nouvelle pour compter les sporozoïtes de *Theileria*; nous employons l'anticorps monoclonal $D_1$, qui reconnaît les sporozoïtes et les sporoblastes dans différentes sortes de préparations, fixées ou non, mais n'a de réaction croisée avec aucune autre forme que prend la theiléria au cours de son cycle vital. Nous marquons cet anticorps monoclonal avec de l'iso-thiocyanate de fluoresceine et le mettons en incubation avec les theilérias; nous analysons cette culture avec notre procédé FACS (tri de cellules activées par fluorescence). Nous identifions ainsi trois populations distinctes: particules de sporozoïtes, sporozoïtes intacts, sporoblastes. Les sporozoïtes ainsi triés par le FACS restent infectieux tant pour les bovins que pour les cultures de lymphocytes bovins *in vitro*; leur taille est d'environ huit dixièmes de µm.

Nous avons analysé par ce procédé deux souches de *T p parva*, celle de Muguga et celle de Marikébuni. La comparaison de suspensions tirées de tiques infectées qui s'étaient nourries quatre jours nous a donné à penser que ces deux lignées pourraient ne pas avoir le même cycle de maturation: les sporoblastes constituaient environ 10% des

suspensions tirées des tiques infectées par *T p parva* (Muguga), contre 30 à 40% de celles qui venaient de tiques infectées par la lignée de Marikébuni. Les séquences de gènes que nous constatons actuellement dans les différentes populations de *Theileria* deviendront peut-être, pour leur part, d'utiles instruments pour déterminer le nombre des parasites présents dans les stabilats. Notre but, dans cette recherche, c'est d'arriver finalement à produire des stabilats de *Theileria* dont nous connaîtrons bien les divers traits: le nombre de leurs sporozoïtes, leur caractère infectieux, leur réaction à l'anticorps monoclonal, leur immunité croisée, leur sensibilité à l'oxytétracycline.

On emploie en général deux procédés pour l'application de produits chimiques dans l'immunisation par infection plus traitement: protection par l'oxytétracycline, d'habitude au moment de l'infection, ou bien traitement à la parvaquone huit jours après l'infection. Là où les deux procédés ont une égale efficacité, il faut préférer le procédé par l'oxytétracycline, parce qu'il coûte notablement moins cher et ne mobilise les bêtes qu'une seule fois. Malheureusement, il y a certaines formes de FCO que le traitement à l'oxytétracycline ne maîtrise pas.

Nous cherchons actuellement, à l'ILRAD, à élucider la façon dont agit l'oxytétracycline. Notre objectif est d'améliorer son efficacité dans l'immunisation par traitement plus infection, et aussi de prévoir les situations où elle risque de ne pas être efficace. Nous avons mis de l'oxytétracycline en contact avec des lymphocytes bovins, *in vitro*, à différentes étapes d'une infection par *T p parva* et à des concentrations similaires à ce qu'elles seraient — d'après nos calculs — chez un animal traité. Il ressort, semble-t-il, du résultat de cette expérience que le produit agit sur le développement des lymphocytes infectés une fois que les sporozoïtes y ont adhéré et y ont pénétré. Nos recherches sur les enzymes semblent indiquer que l'oxytétracycline agit sur les phénonomènes énergétiques ou la synthèse des protéines qui sont nécessaires à l'établissement du parasite dans la cellule de l'hôte. Le produit diminue, semble-t-il, le progrès de l'infection, sans empêcher complètement cette infection. Ce que nous cherchons maintenant à savoir, c'est si les effets que nous constatons sont dus à l'action directe du produit sur le parasite, ou à son action sur la cellule de l'hôte, ou sur les deux à la fois.

Nous avons commencé en 1985 à étudier le potentiel immunogène d'une souche de *T parva* isolée au Zimbabwé, *T p bovis* (Boléni), qui ne cause chez les bestiaux, semble-t-il, qu'une réaction bénigne. Quand nous avons inoculé à des bovins boran de l'ILRAD un stabilat de la souche de Boléni, tous les sujets de l'expérience ont fait une faible infection, mais ont guéri sans traitement. Ces mêmes sujets ont ensuite résisté à l'attaque de deux souches virulentes de *T p parva*, celle de Muguga et celle de Marikébuni.

Nous avons préparé un stabilat de tiques qui avaient piqué deux des animaux de cette expérience, et l'avons inoculé à 28 bovins. La plupart de ces sujets ont fait une réaction bénigne; pourtant quelques-uns ont eu une réaction sévère, et l'un d'eux est mort. Nous avons divisé les survivants en quatre groupes, que nous avons attaqués avec quatre sortes de stabilats: *T p parva* (Marikébuni), *T p parva* (Mariakani), *T p lawrencei* (Ngong), et *T p lawrencei* (Buffalo 2306). Nous avons aussi attaqué avec chacun de ces quatre stabilats deux témoins sensibles. La plupart de ces sujets ont eu une réaction bénigne ou imperceptible, sauf avec *T p parva* (Mariakani), qui a causé une réaction plus sévère. Tous les témoins ont eu une réaction grave, et plusieurs sont morts.

Il semble ressortir de cette expérience que, d'une façon générale, *T p bovis* (Boléni) suscite chez *B indicus* une réaction bénigne et le rend résistant à une attaque mortelle par certaines lignées de *T p parva* ou de *T p lawrencei*. On a essayé de cultiver la lignée de Boléni, mais la plupart de ces essais ont échoué. Il se peut que cette theil-

éria ne provoque pas facilement la transformation des cellules de l'hôte, d'où la difficulté d'obtenir une infection *in vitro* comme *in vivo*. C'est ce qui expliquerait les réactions bénignes des bovins infectés. Nous continuons à étudier *T p bovis* (Boléni), puisque ce serait éventuellement un précieux élément d'immunisation.

Pendant que l'ILRAD continue à améliorer les techniques d'immunisation contre la FCO, plusieurs pays ont engagé des essais sur le terrain en vue de généraliser l'immunisation par infection plus traitement. Ces recherches de longue haleine sont nationales au Kénya, au Rwanda, au Zimbabwé et en Tanzanie (Zanzibar), et internationales au Burundi, au Malawi et en Zambie. Pour tous ces programmes, l'ILRAD fournit une formation et des conseils techniques, ainsi que son appui.

Il y a eu à l'ILRAD deux réunions internationales de travail, l'une en 1984 et l'autre en 1985, pour débattre de l'action et des besoins de ces programmes nationaux (essais d'immunisation sur le terrain). Pour répondre à des demandes faites lors de ces réunions, l'ILRAD constitue actuellement une banque de données sur ordinateur dont les programmes nationaux pourront se servir pour traiter et analyser les données relatives au comportement du bétail immunisé contre la FCO. Voici ce que l'ILRAD a fait pour soutenir ces programmes nationaux.

1. Burundi. Caractérisation, *in vitro* et *in vivo*, des isolats locaux de *T parva*; formation en cours d'emploi.
2. Kénya. Caractérisation, *in vitro* et *in vivo*, des isolats locaux de *T parva*; aide aux essais d'immunisation (Ngong); formation en cours d'emploie.
3. Malawi. Caractérisation, *in vitro* et *in vivo*, des isolats locaux de *T parva*; fourniture d'anticorps monoclonaux.
4. Rwanda. Caractérisation, *in vitro* et *in vivo*, des isolats locaux de *T parva*; fourniture de stabilats.
5. Tanzanie (Zanzibar). Consultations, inventaire épidémiologique. Isolement et caractérisation des lignées locales de *T p parva*.
6. Zambie. Caractérisation, *in vitro*, des isolats locaux de *T p parva*.
7. Zimbabwé. Caractérisation, *in vitro* et *in vivo*, des isolats locaux de *T parva*. Aide à la mise au point du programme d'immunisation contre la theiériose. Formation en cours d'emploi.

## LA COWDRIOSE. OBSERVATIONS PRELIMINAIRES

La cowdriose est une maladie, transmise par les tiques, qui cause chez les bovins, les ovins et les caprins une maladie grave, et la mort. Les essais d'immunisation contre la FCO qui ont eu lieu dans la Province côtière du Kénya nous ont appris que la cowdriose y sévit régulièrement; à mesure que l'on immunisera davantage de bestiaux contre la FCO, il est probable que l'on constatera davantage de cas de cowdriose. La cause de la cowdriose est la microbe *Cowdria ruminantium*, que la tique *Amblyomma variegatum* trasmet au bétail.

Comme la cowdriose risque d'être importante dans les endroits où la FCO est endémique, nous étudions, à l'ILRAD, le développement de *Cowdria* dans la tique vectrice et dans le mammifère hôte. Un de nos objectifs est de définir les étapes de ce développement où nous pourrions trouver des antigènes qui serviraient au diagnostic.

Nous avons tiré un stabilat de *C ruminantium* de tiques adultes en provenance de Kiswani, dans la Province côtière du Kénya. Il est infectieux pour les bovins ou ovins sensibles. Nous avons examiné au microscope électronique des tiques infectées: larves, nymphes, adultes à jeun, ainsi que du sang et des tissus prélevés sur la cervelle, le cœur, les reins, le foie et la rate de bovins mortellement infectés.

Nous n'avons pas trouvé de *Cowdria*

dans les larves de tique; mais nous avons observé, chez les nymphes et les adultes à jeun, des micro-organismes du type de *Cowdria* dans des vacuoles des cellules de l'intestin moyen (figures 6 et 7). Nous les avons observés au plus tôt 12 jours et au plus tard 43 jours après le repas des tiques sur une vache infectée. Ces micro-organismes, Gram-negatifs et de forme bactérienne, avaient une morphologie générale semblable, mais des variations mineures de forme et de taille. Nous n'avons pas trouvé de micro-organismes semblables dans d'autres organes des tiques, mais cela ne prouve pas forcément leur absence. Il sera beaucoup plus facile de déceler ces microbes quand nous aurons un anticorps spécifique anticowdria.

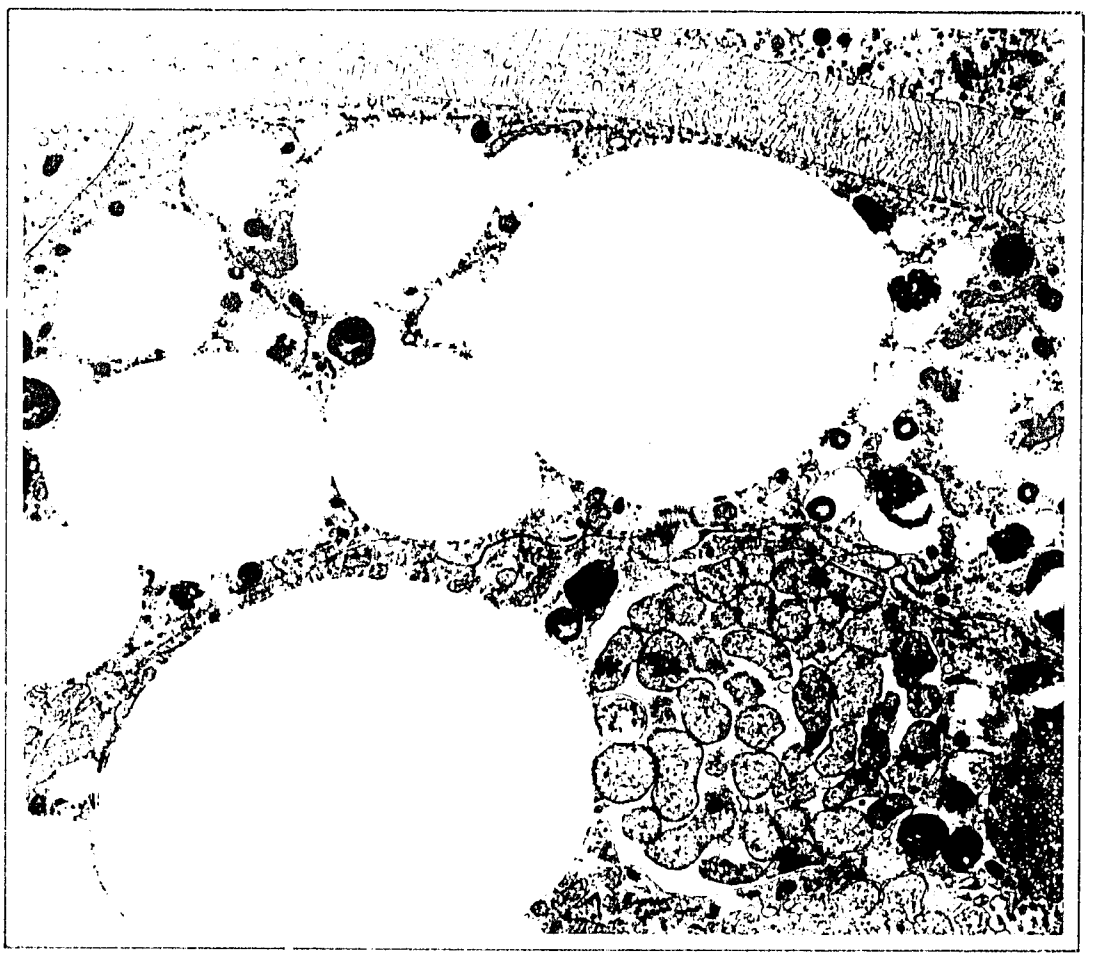


Figure 6. Micrographie électronique d'une section d'une cellule épithéliale de l'intestin moyen d'une tique (*Amblyomma variegatum*) adulte femelle. A l'état nymphal, cette tique s'était nourrie sur une vache infectée par *Cowdria ruminantium*; à l'état adulte, elle s'était fixée sur une bête indemne. Il y a dans la cellule de grosses gouttelettes de lipide, ainsi qu'une vacuole où se trouvent des microorganismes qui sont, à notre avis, *C ruminantium*. Il y a un autre amas d'organismes, dans une vacuole ronde au bord de droite de la micrographie, qui pourraient être une autre forme ou une autre phase du même parasite. On voit, en haut de la micrographie, la lumière de l'intestin. Micrographie originale: x 12.000.

# LES TIQUES ET LA REACTION IMMUNITAIRE

La tique brune de l'oreille (*Rhipicephalus appendiculatus*), agent de transmission de la FCO, reste attachée plusieurs jours à son hôte bovin, en continuant à s'y nourrir. Pendant cette période, elle injecte à son hôte un puissant anticoagulant, ainsi que le ciment qui les joint, plusieurs enzymes, des inhibiteurs d'enzyme et des agents pharmacologiques. Elle a besoin de cette macédoine de molécules biologiquement actives pour amorcer son point d'attache, pour rendre les tissus pénétrables, pour assimiler son repas de sang, et pour bloquer les dispositifs défensifs de son hôte. Mais des indices nous portent à croire que certaines de ces substances peuvent susciter chez l'hôte une réaction d'hypersensitivité à retardement qui lui confère une certaine résistance aux piqûres de la tique.

Quand on sensibilise des lapins, en leur inoculant de l'extrait de glande salivaire de tique ou en les faisant piquer par des tiques, ils ont une vigoureuse réaction immunologique aux tiques qui les piquent. Nous en avons deux preuves: moins de tiques s'attachent aux lapins sensibilisés, et les tiques qui s'y attachent se gorgent de moins de

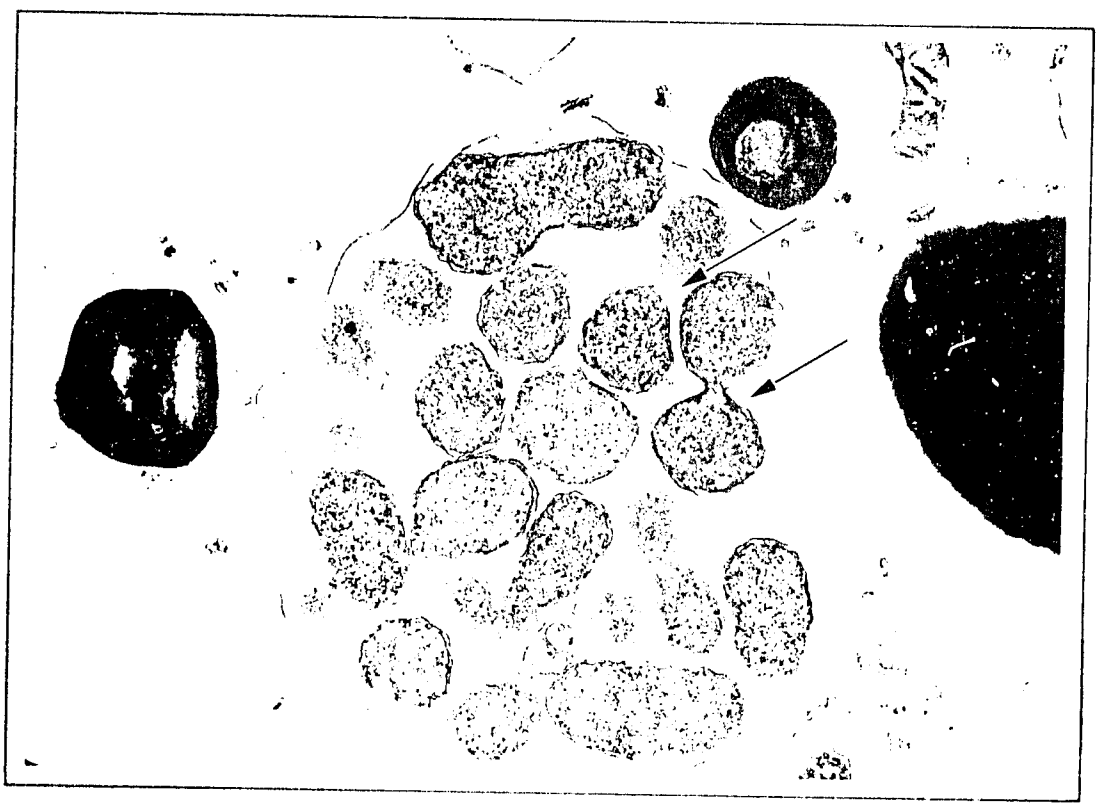


Figure 7. Micrographie électronique de parasites que nous pensons être *Cowdria ruminantium*, à l'intérieur d'une grande vacuole d'une cellule de l'intestin moyen d'une tique. Ce spécimen était ainsi fixé 35 jours après le repas de la tique (*Amblyomma variegatum*) sur une bête infectée. La forme de ces parasites est bacillaire ou coccobacillaire; ils mesurent de 0,50 à 0,75 µm de diamètre, et jusqu'à 2 µm de longueur. Certains profils semblent indiquer une fission binaire (flèches). Autour de chaque parasite, une double membrane – intérieure et extérieure – qui est typique des bactéries Gram-négatives. Le cytoplasme contient de minces filaments d'ADN et des particules qui ressemblent à des ribosomes. Il n'y a pas de membranes intérieures. Micrographie originale: x 35.000.

sang. C'est une réaction immunitaire de ce genre que les bovins acquièrent naturellement sur le terrain, quand des tiques les ont piqués bien des fois. On a essayé d'accentuer cette résistance en immunisant les bestiaux avec des antigènes de tique, des extraits complexes de tique en général. Ces essais n'ont pas accru la résistance limitée que les bestiaux obtiennent sans intervention, et ces procédés ne sont probablement pas d'une application pratique sur le terrain. Nous cherchons actuellement, à l'ILRAD, à identifier avec précision, dans la salive des tiques, les substances immunogènes, et à voir si l'on ne pourrait pas, en employant ces substances en forte concentration dans différents milieux adjuvants, avoir un vaccin contre les tiques.

Les lapins et les cobayes qui ont eu une réaction immunitaire aux piqûres de tique produisent des anticorps qui reconnaissent plusieurs antigènes de tique. Nous nous sommes servis de ces anticorps pour étudier le développement des antigènes au cours des repas de la tique, et avons constaté que la présence de beaucoup d'antigènes salivaires de la tique varie, ainsi que leur concentration, au cours de ce repas. De plus, il semble bien que beaucoup des antigènes des tiques adultes manquent aux larves et aux nymphes.

L'action anticoagulante étant d'une grande importance pour que les tiques qui se nourrissent restent en vie, nos recherches, poursuivies en collaboration avec le département de biochimie de l'Université de Naïrobi, ont particulièrement visé à purifier et analyser la molécule anticoagulante contenue dans des extraits de glande salivaire de tiques (figure 8). Nous avons achevé ce travail en 1985; cette molécule (figure 9) est un inhibiteur complexe de prothrombinase qui ne suscite pas de réaction immunitaire chez les lapins, peut-être parce que nous avions beaucoup manipulé cet agent pour le purifier, ou parce que l'hôte le métabolisait vite. Cet anticoagulant n'est donc vraisemblablement pas un candidat au rôle de base d'un vaccin contre les tiques. Il est vrai que notre étude de sa structure pourrait bien nous faire apercevoir des dispositifs moléculaires sous-jacents sur lesquels nous pourrions agir pour rendre cet anticoagulant plus immunogène.

Nous étudions maintenant d'autres éléments de la salive de la tique, que nous voudrions isoler les uns des autres pour voir si tel ou tel d'entre eux pourrait servir d'antigène dans un vaccin contre les tiques. Nous cherchons actuellement à déterminer le rôle de différentes sortes de molécules: accentuer l'infestation des tiques et la transmission des sporozoïtes, esquiver la défense de l'hôte et susciter les réactions inflammatoires. Nous analysons donc des antihistamines, des inhibiteurs d'enzymes, ainsi que des molécules d'immunosuppression et d'anticomplément.

Nous cherchons en particulier les molécules éventuellement immunogènes qui seraient présentes au début de la fixation de la tique sur son hôte. En analysant les protéines de la glande salivaire des tiques par électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS, nous avons constaté de nombreux changements au cours de la fixation et du repas. Une molécule dominante, de 67.000 daltons, est absente des tiques à jeun; elle apparaît peu après la fixation, et disparaît par la suite; c'est sans doute que la tique la secrète ou la transforme en d'autres substances dont elle a besoin pour son développement à mesure que son repas se déroule. Nous nous servons actuellement d'anticorps antitiques pour purifier cette molécule.

Nous avons isolé de la glande salivaire des tiques une autre protéine antigénique, dont le poids moléculaire est de 90.000 daltons. L'endroit où elle se trouve dans la glande salivaire donne à penser qu'elle peut contribuer à la sécrétion d'eau pendant le repas de la tique. On pourrait contrarier cette importante fonction physiologique en immunisant le bétail avec cet antigène; c'est ce que nous cherchons actuellement à vérifier.

Nous savions par nos travaux précédents

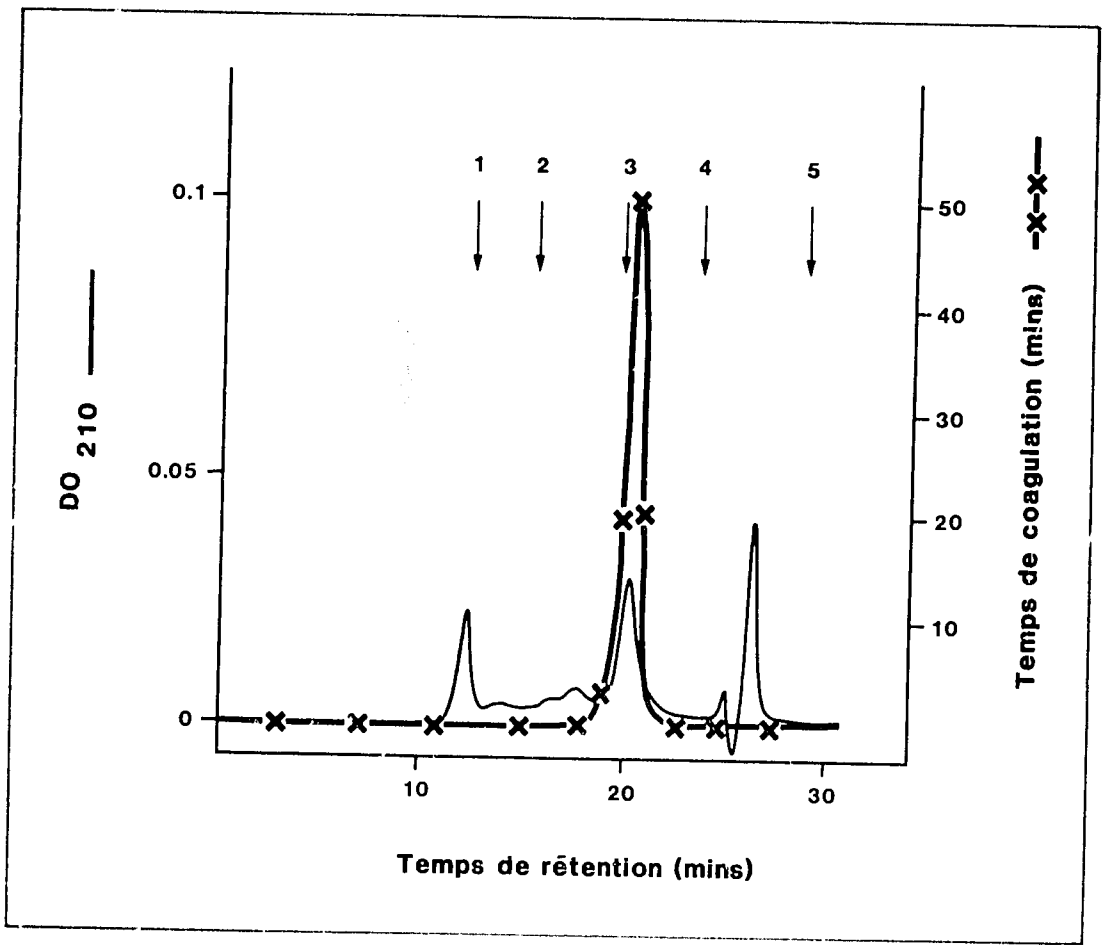



Figure 8. Profil (par élution HPLC) d'une molécule d'anticoagulant, tirée par purification d'homogénats de glande salivaire de *R. appendiculatus*. Cette chromatographie indique le temps de rétention des protéines normales (flèches), l'absorbance protéinique étant de 210 nm. L'action anticoagulante de la tique a sa coélution avec une pointe protéinique symétrique, le temps de rétention étant d'environ 20 minutes

que les tiques (*R. appendiculatus*), quand elles piquent un animal immunisé contre la FCO, absorbent l'anticorps antithéiléria dont leur hôte est porteur, et que cet anticorps passe tel quel du jabot dans l'hémolymphe. Nous avons cherché à savoir, en 1985, si cet anticorps pourrait gêner le développement des théilérias à l'intérieur de la tique, ce qui couperait le cycle de transmission de la maladie. Nous nous sommes servis, pour cette recherche, de l'anticorps monoclonal $D_1$, produit contre les sporozoïtes de *T. parva*, et d'antisérums prélevés sur des bestiaux immunisés contre la FCO.

L'anticorps monoclonal $D_1$ neutralise *in vitro* le caractère infectieux des sporozoïtes de *T. parva*. Nous savions déjà qu'il reconnaît un déterminant antigénique synthétisé au cours du développement des sporozoïtes dans la glande salivaire de la tique, deux ou trois jours après le début de son repas. Dans une première expérience, nous avons inoculé à un lapin, tous les jours pendant quatre jours, 800 µl de $D_1$ sous la forme de fluide des ascites de souris, et n'avons inoculé à un lapin témoin qu'une solution saline de phosphate.

Immédiatement après la première piqûre,

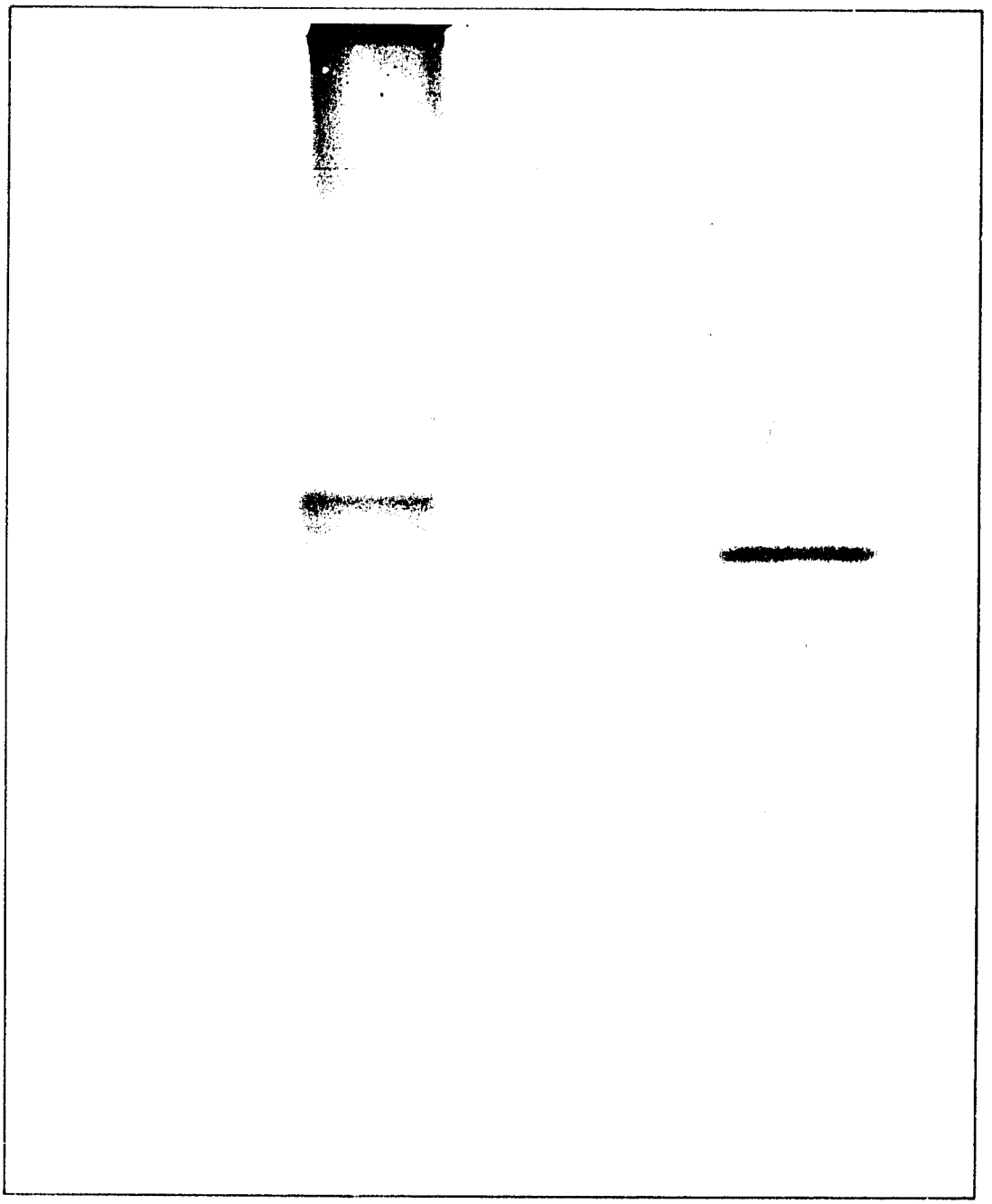


Figure 9. Gel polyacrylamide de dodécyl-sulfate de sodium, où l'on voit (colonne de gauche) un homogénat grossier de glandes salivaires de tique (*Rhipicephalus appendiculatus*), dont nous sommes partis pour purifier un anticoagulant salivaire de tique. La colonne de droite montre cet anticoagulant sous la forme d'une bande unique de protéine purifiée.

nous avons appliqué aux oreilles de chaque lapin 20 tiques mâles et 20 tiques femelles (*R appendiculatus*). Ces tiques étaient adultes; mais, à l'état nymphal, elles s'étaient infectées en piquant un veau infecté par *T p parva* (Muguga). Au bout de quatre jours de leur repas, nous avons retiré de leurs hôtes les tiques partiellement gorgées; nous avons disséqué leur glande salivaire, que nous avons examinée pour y compter les theilérias; nous avons aussi examiné leur hémolymphe.

Dans l'hémolymphe des tiques nourries sur le lapin traité à l'anticorps, nous avons décelé environ 0,006 µl de $D_1$. Chez ces tiques, mâles ou femelles, il y avait un beaucoup moindre pourcentage de sporozoïtes arrivés à maturité que chez les tiques nourries sur le témoin. C'est donc que l'anticorps antitheiléria avait traversé le jabot des tiques pendant leur repas, avait pénétré dans l'hémolymphe et avait gêné le développement des theilérias dans la glande salivaire.

Dans une deuxième expérience, nous avons préparé de l'immunoglobuline ($IgG_2$) en partant du sérum de bestiaux, immunisés contre les sporozoïtes de *Theileria*, qui montraient un fort titre d'anticorps antisporozoïte. Nous avons inoculé à un lapin, tous les jours pendant quatre jours, 500 µl d'$IgG_2$ bovine prise à une vache immunisée, mais n'avons inoculé à un lapin témoin que de l'$IgG_2$ bovine normale. Après la première injection, nous avons disposé 20 tiques mâles et 20 tiques femelles (*R appendiculatus*) infectées par *T p parva* (Muguga) sur les oreilles de chaque lapin. En examinant la glande salivaire de ces tiques au bout d'un repas de quatre jours, nous avons trouvé chez les tiques nourries sur le lapin traité à l'$IgG_2$ bovine immunisée moins de sporozoïtes arrivés à maturité que chez les tiques nourries sur le témoin traité à l'$IgG_2$ de bovins non immunisés.

Nous savions déjà que les bestiaux qui guérissent de la FCO produisent des anticorps antisporozoïtes qui pourraient jouer un rôle dans la protection dont ces sujets bénéficient par la suite. Il ressort de notre recherche, à notre avis, que ces anticorps antisporozoïtes empêcheraient aussi le développement des theilérias à l'intérieur de la tique.

# TRYPANOSOMIASE

Les agents de la trypanosomiase sont des protozoaires parasites qui infectent les bovins, les ovins, les chèvres, les porcs, les chevaux, les ânes, les chameaux, beaucoup d'animaux sauvages et les êtres humains. Les espèces de trypanosome qui sont économiquement les plus importantes sont celles qui infectent les ruminants domestiques en Afrique: *Trypanosoma congolense*, *T vivax* et *T brucei brucei*. Deux autres sous-espèces de *T brucei*, très proche de la précédente, *T b rhodesiense* et *T b gambiense*, causent chez les êtres humains la maladie du sommeil.

Ce sont le plus souvent les glossines ou mouches tsétsé—une trentaine d'espèces ou sous-espèces de *Glossina*—qui transmettent les trypanosomes. On trouve ces insectes, dans des milieux naturels très divers, sur une dizaine de millions de kilomètres carrés de l'Afrique: 37% de la surface du continent, près de la moitié des terres habitables. Dans les régions qu'infestent les glossines, la trypanosomiase chronique diminue gravement la productivité du cheptel: faible croissance, peu de lait, moindre pouvoir de travail, infertilité. Là où l'infestation est sévère, il est difficile ne serait-ce que d'avoir du bétail, et parfois même d'y habiter.

La trypanosomiase sévit aussi en Amérique latine, au Levant et en Asie. Dans ces régions, ce sont des mouches piqueuses qui transmettent mécaniquement la maladie. On a signalé la présence de *T vivax* dans plusieurs pays d'Amérique du Sud, mais nous sommes trop peu renseignés sur l'épidémiologie de la maladie dans ces pays-là. On rencontre une autre espèce de trypanosome, *T evansi*, en Afrique, au Levant, en Asie et en Amérique du sud. Cette espèce, transmise mécaniquement, cause une maladie grave chez les chevaux et les chameaux, et rend moins productifs les bovins et les buffles domestiques.

Il y a près d'un siècle qu'on lutte contre la trypanosomiase. On a cherché au début à maîtriser la glossine vectrice, soit en détruisant les populations d'animaux sauvages sur lesquels les glossines se nourrissent, soit en détruisant les buissons dont elles ont besoin pour se réfugier et se reproduire. Plus récemment, la lutte a principalement consisté en l'emploi d'insecticides. Cette lutte a eu du succès là où l'application d'insecticides a été judicieuse, notamment au Nigéria, au Botswana, en Zambie et au Zimbabwé. Mais l'aspersion d'insecticides n'est pas totalement efficace là où les glossines sont extrêmement nombreuses, la végétation touffue ou les pluies abondantes; d'autre part, ces aspersions demandent une assez grosse mise de fonds et une gestion très compétente. Pour ces diverses raisons, les zones infestées par les glossines s'agrandissent dans beaucoup de régions d'Afrique. On peut craindre aussi que des aspersions

répétées d'insecticide, sur une grande échelle, n'aient sur le milieu naturel des effets fâcheux.

Depuis une soixantaine d'années, le traitement régulier au moyen de produits trypanocides est devenu une importante méthode de lutte contre la maladie. Il a eu du succès là où la gestion du cheptel était compétente et persévérante. Les régimes chimiothérapeutiques de lutte contre la trypanosomiase demandent qu'on les applique indéfiniment, parce qu'il y a, au contact des animaux domestiques, un vaste réservoir d'infection chez les animaux sauvages. Il faut d'autre part s'inquiéter d'une éventuelle résistance qui se bâtirait chez les populations locales de trypanosomes, car on n'a pas inventé, depuis un quart de siècle, de nouveau produit trypanocide d'un usage général.

Le but de nos recherches est de trouver de meilleures mesures pour maîtriser la trypanosomiase: des mesures efficaces, sans danger et économiquement valables. La base de ces recherches est large, mais nous pouvons les répartir en trois groupes: améliorer la lutte contre les trypanosomes; renforcer la résistance de l'hôte à l'infection; procéder à des études épidémiologiques.

## MEILLEURE LUTTE CONTRE LES PARASITES

Les trois principales espèces de trypanosomes salivaires passent, au cours de leur cycle vital chez la glossine vectrice et chez l'hôte mammifère, par plusieurs étapes distinctes. Quand une glossine pique un animal infecté, elle absorbe des trypanosomes en même temps que du sang; ces trypanosomes ont alors une étape de leur développement à l'intérieur de ce diptère. *T brucei* se développe dans son intestin moyen, son proventricule et sa glande salivaire; *T congolense* se développe dans son intestin moyen, son proventricule et les pièces de sa bouche; *T vivax* se développe entièrement dans les pièces de sa bouche. A la fin de cette étape de leur développement, les trois espèces ont la forme métacyclique. La prochaine fois que la glossine se nourrit, elle injecte dans la peau de son hôte les trypanosomes métacycliques en même temps que sa salive à elle.

Quand une glossine transmet à un animal non infecté *T congolense* ou *T brucei*, il se produit, à l'endroit où elle a piqué, une réaction locale cutanée de plusieurs centimètres de diamètre; on l'appelle chancre. Les trypanosomes métacycliques poursuivent leur développement dans ce chancre, envahissent les vaisseaux lymphatiques avoisinants et, en passant par le ganglion lymphatique régional, entrent dans le courant sanguin. Ceux de l'espèce *T vivax* vont eux aussi de la peau au courant sanguin en passant par le système lymphatique, mais la réaction cutanée locale est moins sévère, et peut même être absente.

Ce qui caractérise l'infection du courant sanguin, c'est une succession de vagues de parasitémie, les populations de trypanosomes se multipliant vite, mais mourant ensuite presque complètement, les quelques survivants recommençant alors à se multiplier. Les trypanosomes (*T vivax* et *T brucei*) peuvent aussi envahir les tissus connectifs; quand l'infection est très avancée, on peut trouver des individus des trois espèces dans le système nerveux central.

Les trypanosomes métacycliques et les formes qui se développent dans le sang de l'hôte mammifère sont revêtus d'une couche dense d'antigène, épaisse de 12 à 15 nm. Ce manteau superficiel se compose de glycoprotéines, qu'on appelle glycoprotéines superficielles variables (ou GSV). Les trypanosomes, quand ils se développent à l'intérieur de la glossine, ne sont revêtus de GSV que lorsqu'ils arrivent à l'étape métacyclique et sont prêts à passer dans un hôte mammifère.

Quand un animal devient infecté, il produit des anticorps contre les GSV de la première vague des trypanosomes envahisseurs. Mais, avant que ces anticorps aient éliminé tous les parasites, il apparaît de nouveaux

trypanosomes, revêtus de GSV différentes, et ces nouveaux envahisseurs déjouent la première réaction immunitaire de leur hôte. Ces trypanosomes se multiplient vite, et l'hôte produit de nouveaux anticorps, mais de nouveaux trypanosomes apparaissent alors, revêtus d'encore une autre GSV: ils sont toujours en avance d'une longueur sur la réaction de leur hôte. Nous avons observé, chez des animaux de laboratoire, plus de 100 différentes variétés de GSV chez les descendants d'un seul trypanosome, et les spécialistes sont d'avis que les descendants d'*un* même individu peuvent montrer plusieurs centaines de sortes différentes de manteau superficiel.

Cette remarquable aptitude à changer la composition antigénique du manteau superficiel (on l'appelle variation antigénique) est le principal phénomène qui empêche la plupart des animaux domestiques d'acquérir une véritable immunité à l'égard de la trypanosomiase. Ce phénomène permettrait au trypanosome d'éluder un vaccin de type classique, car l'action d'un tel vaccin consiste à amorcer chez le sujet vacciné une réaction antisomatique contre un seul antigène, ou seulement quelques-uns.

Nous concentrons nos recherches, à l'ILRAD, sur la variation antigénique: sa base génétique et la façon dont les GSV se synthétisent à l'intérieur du trypanosome, puis passent à sa surface. Nous nous préoccupons aussi des différentes étapes du cycle vital des trypanosomes et des dispositifs qui entrent en jeu dans le passage d'une étape à la suivante. Notre objectif est de découvrir les facteurs sur lesquels on pourrait agir pour briser le développement des parasites ou pour les rendre vulnérables aux défenses de leur hôte.

## VARIATION ANTIGÉNIQUE CHEZ *T. BRUCEI*

Les trypanosomes disposent d'un très grand nombre de gènes de GSV—probablement plusieurs centaines. Chacun de ces gènes code une protéine différente, protéine capable de former, à l'occasion, l'élément protéinique de la glycoprotéine superficielle. D'une façon générale, il ne s'exprime qu'un seul de ces gènes à la fois. Les spécialistes de la biologie moléculaire, à l'ILRAD et ailleurs, ont cherché à connaître le dispositif en jeu dans deux phénomènes: l'expression des gènes de GSV, et l'aiguillage génétique qui se produit quand les trypanosomes changent de manteau.

Pour s'exprimer, un gène de GSV doit se trouver dans un site d'expression qui se trouve près de l'extrémité d'un chromosome; on appelle ce site le site télomérique. Avant ce point de départ, le gène se transcrit d'ADN en ARNm, puis se traduit d'ARNm en la protéine du manteau superficiel. Il y a plusieurs sites d'expression dans le génome des trypanosomes, mais un gène ne se transcrit en ARNm qu'en un seul de ces sites à la fois. L'aiguillage antigénique peut se produire quand un gène de GSV en remplace un autre au site télomérique actif, ou quand un autre site télomérique entre en activité; nous ignorons ce qui active un site télomérique.

Dans le premier cas d'aiguillage antigénique: remplacement d'un gène par un autre dans un site télomérique actif, le cas que nous connaissons le mieux est celui où un gène de GSV fait place, dans un site d'expression, au doublet d'un autre gène de GSV. Ce remplacement d'un gène se fait le plus souvent par recombinaison de séquences à répétition dans une certaine région «déserte» d'un côté du gène de GSV dans son site télomérique. Nous avons analysé ce flanc du gène pour savoir s'il n'aurait pas aussi un rôle dans l'aiguillage des gènes sans remplacement de gènes.

Nous nous sommes surtout intéressés à cette région chez deux exemplaires du gène de GSV ILTat 1.3 de *T. brucei*, l'un exprimé et l'autre non. Ces deux doublets sont dans des sites télomériques; l'un se trouve sur un minichromosome, l'autre dans un site d'expression. Nous avons séquencé en 1985 la région déserte de 5' du doublet du site d'expression, et nous l'avons trouvée iden-

tique que le site soit actif ou non, ce qui nous incite à penser qu'un changement de séquences de l'ADN dans la région déserte n'entre pas forcément en jeu dans l'activation de ce site. En comparant ce qui précède avec la séquence latérale de 5' du doublet situé sur le minichromosome, nous avons été d'avis que les deux doublets ne provenaient pas, indépendamment l'un de l'autre, d'un gène non télomérique, mais qu'ils dérivaient l'un de l'autre par des duplications en série. Cela voudrait dire que les gènes de GSV de trypanosome peuvent se déplacer d'un site télomérique à un autre de la même façon qu'ils passent d'un site non télomérique à un site télomérique.

Nous avons d'autre part prélevé un segment d'ADN, dans le site d'expression précédemment occupé par le gène ILTat 1.3, sur un trypanosome qui avait perdu l'exemplaire exprimé de ce gène. En étudiant la transcription, nous avons compris que la perte du gène ILTat 1.3 était due à son remplacement par un autre gène de GSV au site d'expression. En nous servant de la technique d'OFAGE (technique d'électrophorèse par alternance orthogonale du champ électronique appliqué à un gel d'agarose), nous avons constaté que le nouveau segment d'ADN venait d'un minichromosome. L'analyse des séquences nous a appris qu'au moins 16 répétitions de la région déserte étaient arrivées du minichromosome au site d'expression, en même temps que le nouveau gène de GSV. Il se peut donc que les gènes de GSV des minichromosomes soient flanqués de longs fronts de répétitions, semblables à ceux qui flanquent les gènes exprimés, au lieu des fronts courts des gènes non télomériques. Cela donne aussi à penser que les gènes de GSV associés à d'assez longs fronts latéraux ont plus de chances que d'autres de parvenir aux sites d'expression.

Cette recherche nous a appris que le gène de GSV ILTat 1.3 reste sur le même petit chromosome, qu'il s'exprime ou non. Outre sa valeur topographique, ce fait nous montre que l'aiguillage d'expression des gènes de GSV peut ne pas toujours entraîner un nouvel arrangement des chromosomes. En revanche, le déplacement ou la destruction de grands segments de chromosomes peut altérer l'expression des gènes de GSV. En employant la même électrophorèse, nous avons observé un gène exprimé de GSV (*T brucei* ILTat 1.1) à l'extrémité d'un chromosome qu'une destruction étendue a plus tard fait disparaître.

On a assez peu publié sur la biologie moléculaire de la variation antigénique chez *T congolense*. Nous cherchons actuellement, en collaboration avec la Vrije Universiteit Brussel (de Belgique), à savoir si le dispositif de la variation antigénique est comparable chez lui à ce qu'il est chez d'autres trypanosomes. Nous avons d'autre part employé des clones de gènes de GSV de *T congolense* comme sondes d'hybridation, pour déterminer leur utilité dans l'étude épidémiologique de la trypanosomiase.

Nous avons étudié en détail deux gènes de GSV venant chacun d'une population antigéniquement distincte de *T congolense*; il s'agissait donc de deux sérodèmes différents. Les clones de la souche ILNaR 2 conservaient un exemplaire de base du gène de GSV ILNat 2.1 sur un minichromosome dont la taille moyenne était de 100 kb, que le gène fût exprimé ou non. Les clones qui exprimaient le gène ILNaT 2.1 avaient un doublet supplémentaire du gène, situé sur un chromosome de 700 kb; mais ce doublet était absent des clones qui avaient changé d'expression et n'exprimaient plus ce gène. Nous n'avons pas constaté d'altération dans les caryotypes moléculaires des clones ILNaR 2: le nombre et la taille des chromosomes entre 200 et 1.000 kb semblaient bien rester constants au milieu de toutes les variantes examinées (figure 10). Il ressort de ces constatations que le gène de GSV ILNat 2.1 s'exprime par translation duplicative. Il semble en ressortir aussi que le nouvel arrangement du gène ILNat 2.1 ne s'accompagne pas d'un vaste déplacement des chromosomes.

En revanche, les clones de la souche

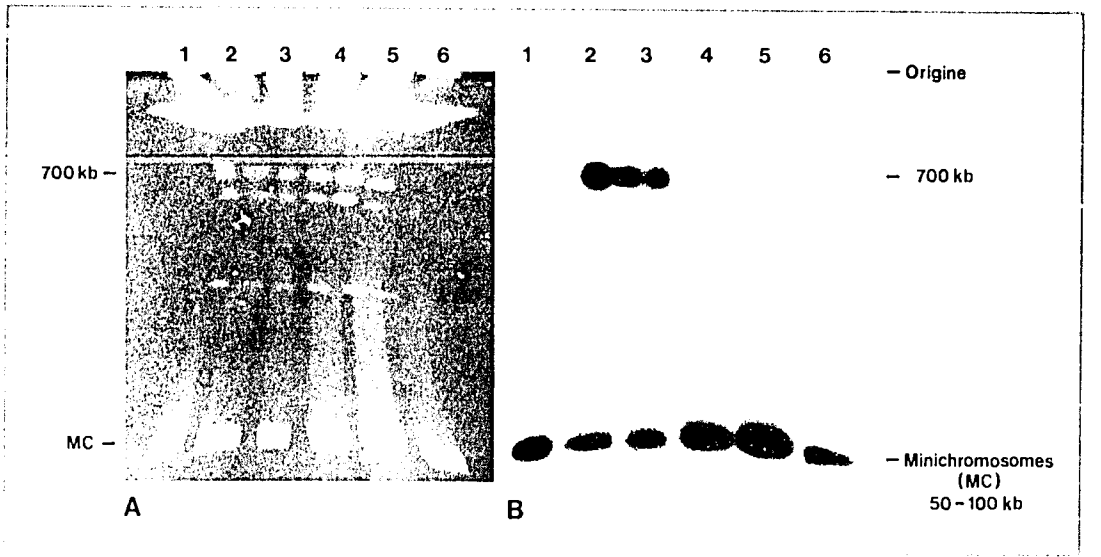



Figure 10 Translation interchromosomale par doublet du gène de GSV ILNat 2.1 de *Trypanosoma congolense*. Prenant des molécules d'ADN, de taille chromosomique, de six clones de trypanosome ILNaR 2, les uns (colonnes 1,2,3) exprimant la GSV ILNat 2.1, les autres (colonnes 4,5,6) ne l'exprimant pas, nous les avons résolus dans un gel d'agarose à 1,5%, par la technique d'OFAGE, l'intervalle des pulsations étant de 20 secondes. A. Photographie du gel coloré au bromure d'éthidium. Nous avons transféré l'ADN, de taille chromosomique, du gel à du papier-filtre de nitrocellulose, et l'avons hybridé avec pcN68, plasmide recombinante dont certaines séquences codent la GSV ILNat 2.1. B. Autoradiographie de ce filtre. La taille approximative des chromosomes est indiquée, par comparaison avec ceux de *T brucei*.

ILNaR 3 de *T congolense* avaient le même nombre de doublets du gène de GSV ILNat 3.2, que le gène se fût exprimé ou non. Nous n'avons pas trouvé ce gène de GSV dans le génome des clones de *T congolense* qui étaient d'un autre sérodème. Nous n'avons pas aperçu de signes d'hybridation, soit dans la digestion, par un enzyme de restriction, de l'ADN total, soit chez des chromosomes entiers séparés par notre électrophorèse (figure 11). Cette observation vient confirmer les résultats des enquêtes analogues que nous avions faites en 1984 en nous servant du gène de GSV ILNat 2.1. Les séquences qui codent ces deux GSV de *T congolense* ne se rencontrent que dans leurs sérodèmes respectifs. Si des séquences qui codent d'autres GSV de la même espèce ne se rencontrent de même que dans leurs sérodèmes respectifs, nous pourrions, en en faisant des sondes d'hybridation, avoir là un utile moyen supplémentaire de caractériser les sérodèmes.

Le microscope électronique nous avait permis en 1984 de déceler un manteau de glycoprotéine superficielle sur les formes métacycliques de *T vivax* tant de souche est-africaine que de souche ouest-africain, manteau analogue au manteau superficiel de *T brucei* ou *T congolense*. En 1985, notre étude des GSV de *T vivax* a principalement consisté à développer l'analyse antigénique du sérodème ILDaR 1, d'Afrique occidentale. Ce qui a gêné cette étude, c'est que nous disposions de très peu d'individus de *T vivax*, et que les GSV de cette espèce semblent instables. Malgré tout, nous avons, grâce à un système de culture récemment

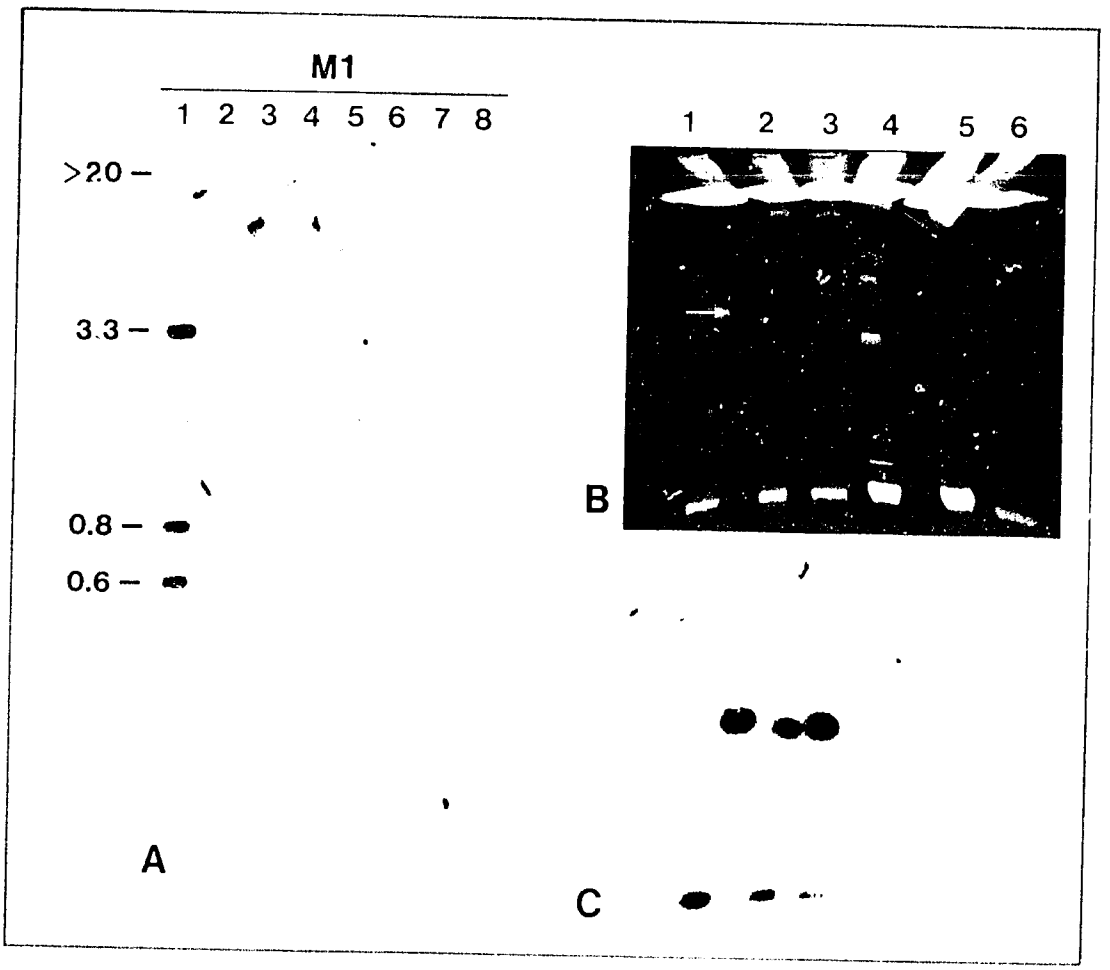



Figure 11. Les séquences d'ADNc de la GSV ILNat 3.2 de *T congolense* sont absentes des génomes hétérologues. A. Nous avons pris l'ADN (2 µg chacun) des clones de *T congolense* de huit sérodèmes différents, l'avons digéré avec *Mbo*I, l'avons fractionné par taille dans un gel d'agarose à 0,8%, l'avons épongé et l'avons hybridé avec l'ADNc de la GSV ILNat 3.2. Les colonnes représentent l'ADN des clones suivants. (1) ILNat 3.1, Sérengeti (Tanzanie); (2) ILNat 2.1, Trans-Mara (Kenya); (3) 776, Kigoma (Tanzanie); (4) ILNaR 1, Nairobi (Kenya); (5) C1, Busoga (Ouganda); (6) C47, Kigoma (Tanzanie); (7) C36, Ikoma (Tanzanie); (8) ILNat 5.1, Kilifi (Kenya). La taille des fragments d'ADN est donnée en kb. B. Nous avons pris des molécules d'ADN, de taille chromosomique, de trypanosomes dont les clones appartenaient à trois sérodèmes distincts les avons fractionnés par OFAGE, dans un gel d'agarose à 1,5%, pendant huit heures, l'intervalle des pulsations étant de 20 secondes, les avons colorés au bromure d'éthidium, et photographiés. C. Prenant l'ADN du gel du panneau B, nous l'avons transféré à un filtre de nitrocellulose et l'avons hybridé avec l'ADNc de la GSV ILNat 3.2. Autoradiographie de cette hybridation. Dans le panneau B, la flèche blanche indique les chromosomes de taille moyenne des clones ILNaR 3 avec lesquels s'hybride l'ADNc de la GSV ILNat 3.2. Clones de trypanosome dont les molécules d'ADN, de taille chromosomique, figurent dans les six colonnes: (1) ILNat 3.1; (2) ILNat 3.3; (3) ILNat 3.2; (4) ILNaR 1; (5) 776; (6) ILNat 2.1.

mis au point, produit de nouveaux types antigéniques, non constatés jusqu'ici, chez les premières populations du courant sanguin de chèvres et de souris. Comme notre système de culture reproduit fidèlement, à notre avis, la partie du cycle vital du trypanosome qui se passe dans la glossine vectrice, il sera intéressant de comparer les nouvelles variantes antigéniques produites en culture avec les types d'antigène que montrent les trypanosomes métacycliques trouvés chez les glossines.

Nous avons, dans les infections par *T brucei* et par *T congolense*, constaté les rapports entre sérodèmes en examinant la résistance des sujets à l'attaque homologue ou à l'attaque hétérologue à la suite d'un traitement cyclique par infection plus traitement. C'est ce que nous n'avons pas toujours pu faire avec *T vivax*. Après une enquête détaillée sur des chèvres, où nous nous sommes servis de lignées et de clones d'Afrique orientale comme d'Afrique occidentale, nous avons constaté que l'immunité homologue est difficile à discerner, quelquefois même après plusieurs attaques par des glossines infectées. Les principales raisons en sont que les glossines infectées par *T vivax* n'injectent qu'un très petit nombre de trypanosomes métacycliques, et que les trypanosomes du courant sanguin sont antigéniquement instables, comme les études antérieures l'avaient montré. Pourtant nous avons pu, en menant plus avant nos expériences, démontrer l'immunité des bovins à l'égard d'une attaque homologue des glossines quand on leur permet de se rétablir pendant plusieurs mois après la guèrison spontanée de l'infection primaire. Nous avons même, dans certains cas, obtenu la protection contre une attaque hétérologue, les lignées de *T vivax* que nous avons employées venant de différentes régions du Kénya. Cela donne à penser que l'immunité à l'égard d'une infection de *T vivax* permettrait au sujet immunisé de réagir à l'égard de tout le répertoire antigénique d'un sérodème.

Nous avons identifié une variante sanguine relativement stable, ILDat 1.2, et nous travaillons actuellement, en collaboration avec l'Université de Victoria (Canada), à caractériser cette variante: poids moléculaire, composition en amino-acides, présence d'un appendice «déterminant d'interréaction/acide gras». Nous allons aussi comparer cette GSV aux GSV d'autres espèces de *Trypanosoma*.

## PROTEINES SPECIFIQUES DES ETAPES DU CYCLE

En se développant dans le sang de l'hôte mammifère, les trypanosomes passent de la forme à division rapide à la forme sans division. Chez *T brucei*, les individus en division rapide dans le sang ont une forme longue et mince, les individus sans division une forme courte et trapue. Ce passage des trypanosomes d'une forme à l'autre contribue à limiter la sévérité de l'infection; il sert aussi, pensons-nous, à préparer les trypanosomes à passer chez les glossines. Une fois entrés dans une glossine, les trypanosomes perdent leur manteau de GSV, et prennent la forme procyclique dans l'intestin moyen du diptère. Si nous comprenions pleinement ces changements, nous pourrions sans doute trouver les moyens spécifiques de briser ce développement. Une intervention qui précipiterait le passage à la forme sans division ou à la forme sans manteau limiterait la croissance démographique des trypanosomes et les exposerait à la réaction immunitaire de leur hôte.

Les protéines spécifiques synthétisées à différentes étapes du cycle vital des trypanosomes pourraient être les cibles d'une attaque chimiothérapeutique ou immunitaire. Nous comparons actuellement chez *T brucei* le profil protéinique des formes sanguines—forme à division rapide, forme sans division,—et de la forme procyclique sans manteau, au moyen de gels bidimensionnels. Nous travaillons d'autre part à identifier les protéines qui seraient spécifiques de telle ou telle espèce ou sous-espèce, et pourraient de

ce fait servir d'instruments à l'épidémiologie ou au diagnostic.

Nous avons trouvé plusieurs protéines spécifiques d'une étape. Les plus évidentes sont les GSV qu'il y a sur toutes les formes sanguines, mais qui ne sont pas sur les procycliques. Parmi les autres, plusieurs n'étaient présentes qu'à une des trois étapes, certaines n'étaient présentes que dans les deux formes sanguines, d'autres n'étaient présentes que dans la forme sanguine sans division et la forme procyclique.

L'étude que nous avons poursuivie en collaboration avec l'Université de Massachusetts/Amherst (États-Unis) concernait certains antigènes invariants qui sont spécifiques de formes sanguines de *T brucei* et *T congolense*. Nous avons constaté qu'il s'agissait de protéines; les anticorps produits contre ces antigènes chez des lapins étaient de la classe IgG. Nous croyons, d'après nos observations au microscope électronique, que certains de ces antigènes invariants se trouveraient à la surface des trypanosomes, et pourraient éventuellement servir à une étude d'immunisation. Nous allons analyser ces antigènes de façon plus détaillée, et éprouver ensuite leur éventuel pouvoir de protection.

En analysant, par notre procédé d'électrophorèse en présence de dodécyl-sulfate de sodium, des fractions de microsomes et des fractions présumées de Golgi, ainsi que des surnageants obtenus après ultracentrifugation à grande vitesse de trypanosomes broyés, nous avons constaté que les formes sanguines à division rapide n'ont pas plusieurs protéines qu'on trouve en abondance chez les formes sanguines sans division. Nos études actuelles sur les changements de *T brucei* au cours de son développement comprennent la préparation d'antisérums contre ces protéines spécifiques de telle ou telle étape. Nous avons, en 1985, prélevé des histones (protéines nucléaires qui interviennent dans l'expression de différents gènes) sur des noyaux très purifiés de trypanosomes, et nous les avons analysées. Nous avons remarqué des différences entre les histones des formes sanguines (à division rapide ou sans division) et celles des formes procycliques.

En collaboration avec la Vrije Universiteit Brussel, nous avons entrepris des recherches, en 1985, pour déceler des différences, dans l'expression des gènes des trypanosomes, qui correspondraient à telle ou telle étape de leur cycle vital. Nous nous sommes surtout intéressés aux formes sanguines (à division rapide ou sans division) de *T brucei*, et aux formes sanguines de *T congolense* ainsi qu'à sa forme métacyclique. Notre méthode consiste à préparer de l'ADNc en partant de l'ARNm d'une étape donnée, de l'hybrider avec l'excédent d'ANRm d'une autre étape, et à prendre la substance non hybridée pour l'enrichir en vue de transcriptions spécifiques d'une étape. Nos recherches préliminaires nous ont appris que cette technique sera sans doute utile pour identifier les transcriptions spécifiques des formes sans division de *T brucei*.

Le but final des études sur le métabolisme des trypanosomes est de trouver le moyen de bloquer leur croissance. Elles pourraient aussi, ces études, nous amener à mieux comprendre l'action pathogène que les trypanosomes ont sur leurs hôtes, ce qui nous indiquerait comment arriver à prévenir ou atténuer les résultats les plus graves de l'infection.

Les trypanosomes prennent du milieu interne de leur hôte des molécules biologiquement importantes—éléments nutritifs ou signaux de différenciation—au moyen de l'endocytose par des vésicules vêtues (figure 12). Pour étudier les molécules du sang de l'hôte dont les trypanosomes ont besoin pour leur développement, nous avons purifié et caractérisé des vésicules vêtues prises à des formes sanguines de *T brucei*. L'examen au microscope électronique nous a révélé une différence entre ces vésicules vêtues de *T brucei* et les vésicules endocyto-

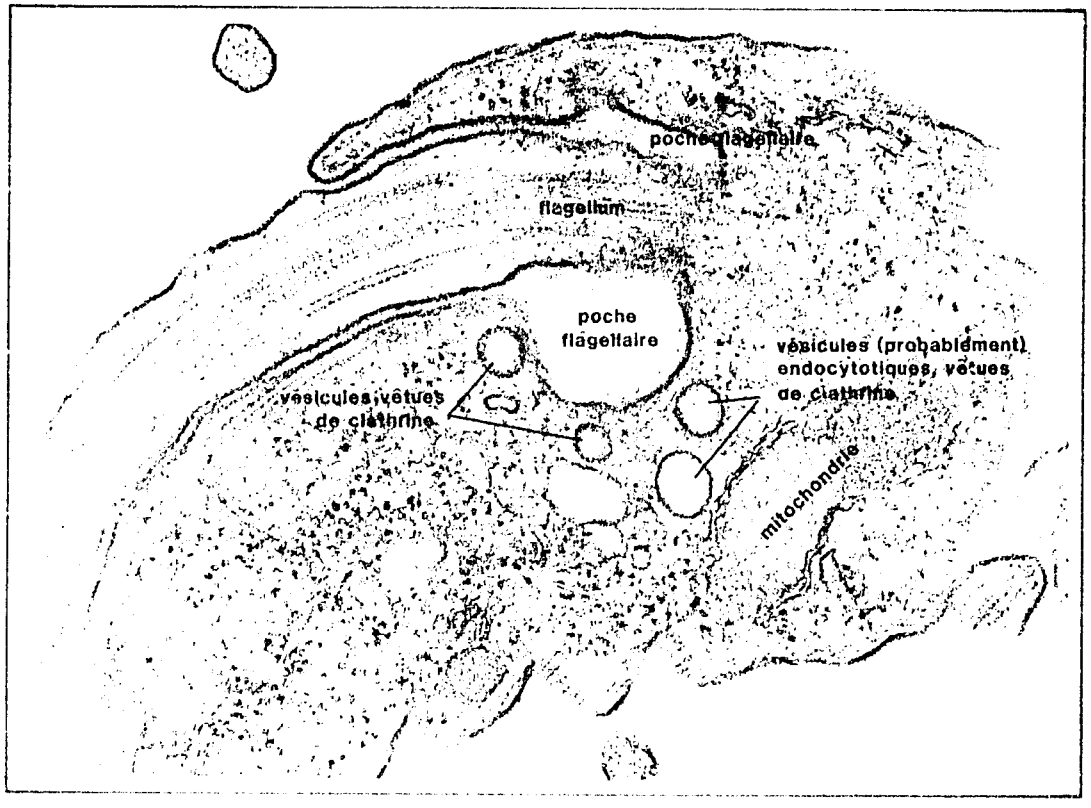



Figure 12. Endocytose en vésicule vêtue chez *Trypanosoma brucei*. Les flèches indiquent les vésicules vêtues près de la poche flagellaire d'un trypanosome. Photographie originale: x 100 000

tiques similaires d'autres cellules à noyau: en plus de leur manteau externe de clathrine, les vésicules du trypanosome ont un manteau interne d'une substance électroniquement dense—sans doute une certaine quantité de GSV. Le contrôle par antisérum nous a montré jusqu'ici, dans les vésicules vêtues du trypanosome, des immunoglobulines (IgG et IgM) et de l'albumine sérique. L'analyse immunologique à laquelle nous avons procédé en collaboration avec l'Université Yale (États-Unis) nous a appris que la clathrine des trypanosomes diffère antigéniquement de celle des mammifères.

C'est entièrement dans la trompe de la glossine vectrice que *T. vivax* se développe. La culture de *T. vivax in vitro* nous a permis de constater un intéressant phénomène: la façon dont les dernières formes sanguines s'attachent aux perles de gel vert Matrix A. Nos travaux de 1984 nous avaient appris que la base de cette liaison est une relation récepteur-ligand entre les trypanosomes et le vert A de la surface des perles. En 1985, nos études d'ultrastructure ont confirmé que l'adhérence de *T. vivax* aux perles *in vitro* ressemble beaucoup à leur adhérence à la trompe des glossines infectées.

Dans le domaine biochimique, nous avons modifié les perles de gel vert A, ou présenté aux trypanosomes toute une série d'autres teintures, différentes mais structuralement apparentées, à la surface des perles. Cette recherche nous a appris que l'action réciproque récepteur-ligand qui attache le trypanosome à la teinture est spécifique d'une certaine structure moléculaire. L'adhérence dépend de l'énergie, et une

membrane en est l'agent: une température de 4°C empêche l'adhérence, laquelle reprend quand on ramène les cultures à 27°C. Nous avons tenté de produire un anticorps contre le vert A; nous n'avons rien obtenu de concluant. En isolant les molécules du trypanosome (*T vivax*) ou de la glossine qui jouent un rôle dans l'adhérence, nous obtiendrions peut-être une façon originale d'intervenir, ce qui nous permettrait de mieux lutter contre la maladie.

Conscients de l'important rôle de protection que jouent les GSV des trypanosomes, nous nous sommes préoccupés de la façon dont ils se revêtent de ce manteau superficiel et de la façon dont ils l'abandonnent. La GSV est ancrée dans la membrane du trypanosome, à ce qu'il nous semble bien, par une fraction de lipide hydrophobe à son extrémité C. Quand on brise des trypanosomes *in vitro*, le clivage enzymatique du résidu lipide libère, des fragments de la membrane plasmique, des molécules de GSV. Si, dans le sang d'un mammifère, les trypanosomes rejettent leur manteau superficiel d'une façon similaire, on pourrait, en stimulant avec des produits chimiques la lipase qui produit le clivage, arriver à une nouvelle thérapeutique pharmacologique. Nos recherches préliminaires nous donnent à penser qu' *in vivo* les trypanosomes (*T brucei*) rejettent en effet leur manteau superficiel par clivage enzymatique, tant sous leurs formes sanguines que lorsqu'ils passent à l'étape procyclique.

Pour savoir où s'exercent les principales fonctions métaboliques des trypanosomes, nous avons mis au point des techniques de biochimie et de microscopie électronique pour en isoler et identifier des fractions subcellulaires. Précédemment, il s'agissait, pour étudier la synthèse des GSV, de purifier des fractions du réticulum endoplasmique (le rugueux et le lisse) et du Golgi. En 1985, nous avons obtenu des fractions très purifiées du flagellum, des lysosomes et des glycosomes (figure 13). Nous nous sommes servis de ces fractions non seulement pour nos études sur la formation des GSV, mais aussi pour étudier les enzymes protéolytiques des trypanosomes.

Nous savons, grâce à l'étude des formes sanguines de *T brucei* et *T congolense*, qu'il y a dans leurs lysosomes une famille d'enzymes protéolytiques qui dépendent du thiol et ont toutes à peu près les mêmes propriétés biochimiques. Par leur étude biochimique, nous avons appris que ces enzymes sont similaires aux thiol-protéases lysosomiques des mammifères, comme la cathepsine B ou la cathepsine L. Mais nous avons aussi trouvé des protéases qui ne dépendent pas du thiol; c'est donc qu'il y a chez les trypanosomes au moins deux formes d'action protéolytique. Nous préparons actuellement des anticorps contre ces enzymes, ce qui nous permettra de vérifier leur présence chez le trypanosome et de savoir si elles se déversent dans le courant sanguin de l'hôte. Nous travaillons aussi à identifier les facteurs qui, tant chez le trypanosome que chez l'hôte, gouvernent leur activité.

La culture des trypanosomes *in vitro* a été une des premières grandes réalisations de l'ILRAD. Dès la fin de 1983, nous avions établi des systèmes de culture qui entretiennent le développement des trois principales espèces africaines de trypanosome d'un bout à l'autre de leur cycle vital. Les travaux poursuivis dans ce domaine en 1985 ont eu pour but de simplifier et normaliser nos systèmes de culture de façon à produire une grande quantité de trypanosomes métacycliques.

Nous avions, en 1984, mis au point deux systèmes de culture pour multiplier les métacycliques de *T vivax*. Nous pouvons maintenant récolter régulièrement, sous leur forme métacyclique et en grande quantité, cinq lignées de *T vivax*. Des observations que nous avons pu faire sur le développement *in vitro* des métacycliques de cette espèce, il ressort qu'il y aurait dans leur développement deux phases morphologique-

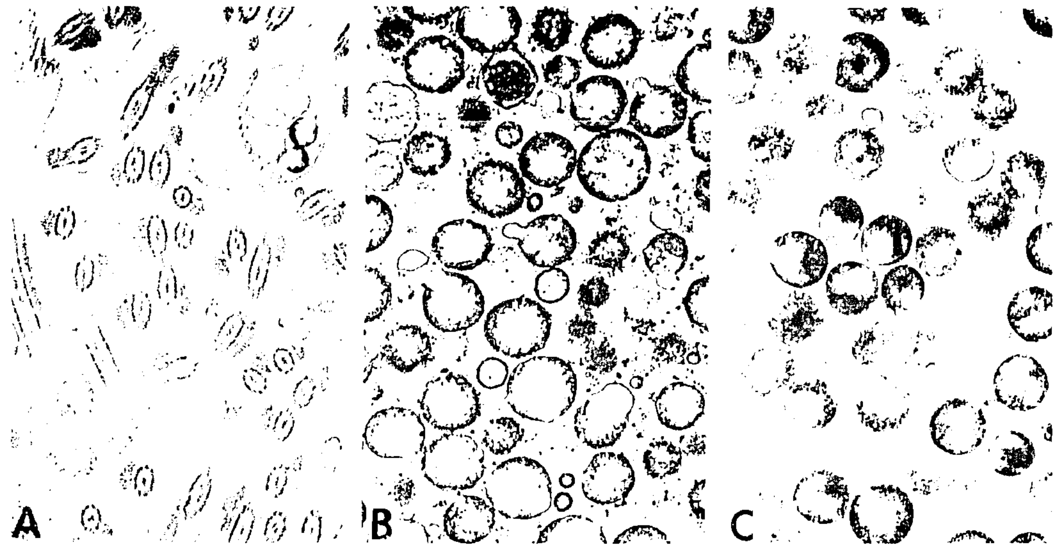


Figure 13. [illegible] (A), [illegible] purifiées (B) et glycosomes (C) isolés de *T. brucei* MITat 1.2 par [illegible] Percoll.

ment distinctes. Nous travaillons actuellement à vérifier cette hypothèse, et d'autre part à cultiver d'autres lignées de *T. vivax*, en particulier des lignées récemment isolées sur le terrain.

C'est en 1983 que nous avons commencé à cultiver, sous leur forme métacyclique, trois lignées de *T. congolense*. En 1985, nous en avons cultivé avec succès une quatrième lignée, celle de Trans Mara; nous pouvons maintenant produire une grande quantité de métacycliques de cette lignée.

L'espèce *T. brucei* est la première que nous avons réussi à maintenir en culture d'un bout à l'autre de son cycle vital; et pourtant les efforts que nous avons faits pour en avoir des métacycliques en grande quantité n'ont pas encore été couronnés de succès. Nous avons poursuivi ces efforts en 1985. Nous avons pris sur des souris infectées des formes sanguines de *T. b. brucei* (TC 221), nous les avons cultivées *in vitro* et avons modifié le système de culture de façon à obtenir des formes qui ressemblent à des métacycliques et qui sont infectieuses pour des souris. Mais nous ne sommes pas encore arrivés à produire un grand nombre de ces formes de façon continue.

## [illegible]

Nos premières recherches sur les infections par *T. brucei* des bovins, du taurotrague et du buffle d'Afrique nous avaient appris qu'il y a deux réactions dans la lutte de l'hôte contre la parasitémie: répression de la croissance des trypanosomes par une action non immunologique, et leur destruction par les anticorps de l'hôte. Par la suite, l'étude de diverses lignées de souris, les unes résistantes et les autres sensibles, nous a enseigné que, pour se multiplier, ces trypanosomes ont besoin de facteurs de croissance qui proviennent de leur hôte; c'est grâce à ces facteurs qu'ils en restent à la phase à division rapide (individus longs et minces), car ces facteurs les empêchent de passer à la phase sans division (individus courts et trapus). Ce qui suscite les réactions antisomatiques de

l'hôte, réactions capables de détruire les trypanosomes, ce sont les trypanosomes courts et trapus en dégénérescence; ces réactions sont spécifiques des épitopes externes ou exposés des molécules de GSV des trypanosomes: elles sont affaiblies chez certains sujets infectés.

Nous avons entrepris d'identifier les facteurs de croissance dus à l'hôte dont les populations de trypanosomes ont besoin pour subsister. Les éléments du sérum bovin qui, dans un système de culture qui dépend d'une couche nourricière, stimulent la multiplication des trypanosomes ont une masse moléculaire supérieure à 100.000 daltons. Ces molécules ne sont ni des lipides, ni des lipoprotéines, ni des immunoglobulines, et sont à peu près de la même taille dans le sérum des souris, celui des rats, celui des caprins et celui des bovins. L'Université de Bordeaux a maintenant mis au point de nouveaux systèmes de culture, qui permettent de cultiver les formes sanguines de *T brucei* sans cellules nourricières. En adoptant ces techniques à l'ILRAD, nous allons pouvoir étudier de façon plus détaillée les besoins de facteurs de croissance de *T brucei*.

On peut modifier chez des souris le taux de croissance des trypanosomes (*T brucei*), en traitant l'hôte avec des bactéries mortes, *Corynebacterium parvum*, qui sont un immunostimulateur non spécifique. Chez les souris ainsi traitées, la parasitémie est réduite de plus de 200 fois, mais cet effet est de peu de durée. Cette réduction résulte, à ce qu'il semble, de l'accélération du passage de la forme à division à la forme sans division. C'est chez les souris normales que cet effet est le plus marqué, mais on le constate aussi chez des souris irradiées, avant le traitement par *C parvum* ou après lui. En radiomarquant *C parvum*, nous avons pu voir que cette bactérie réside surtout dans les cellules phagocytes du foie et des poumons des souris traitées; mais il peut y en avoir pendant quelques jours dans leur rate. Le sérum ou les cellules de rate de souris traitées n'ont pas d'effet perceptible sur des trypanosomes pendant une courte culture *in vitro* (trois heures); quand on les transfère chez des animaux non traités, ils n'augmentent pas la résistance de ces sujets non traités. Il semble résulter de ces observations que le traitment par cette bactérie pourrait empêcher la production des facteurs dus à l'hôte qui favorisent la croissance de *T brucei*; nous ne pouvons pourtant pas exclure l'action de facteurs de blocage.

Si nous savions mieux comment le traitement par *C parvum* agit pour accélérer le changement de forme des trypanosomes, cela nous renseignerait sans doute sur la façon dont les bestiaux résistants et les mammifères sauvages maîtrisent leurs populations de trypanosomes. Mais, pour élucider complètement l'action de ce traitement, il faut d'abord que nous ayons identifié les facteurs de croissance des trypanosomes. Nos études actuelles ont aussi pour objet de déterminer quelles cellules de l'hôte et quels éléments du microbe *C parvum* jouent un rôle dans cette répression des trypanosomes.

Il y a certaines lignées de souris, notablement C3H/He, qui sont extrêmement sensibles à la trypanosomiase. Elles ne produisent pas contre les trypanosomes des anticorps que nous ayons pu déceler; pourtant leurs lymphocytes B producteurs d'anticorps sont largement actifs pendant l'infection. Nous avons mesuré, chez des souris sensibles infectées par *T brucei*, l'activation des lymphocytes B, en calculant ce qu'ils incorporent d'iododésoxyuridine $^{125}$I, cela devant signaler la synthèse de l'ADN. Nous avons mesuré la maturation de la réaction des lymphocytes B en vérifiant la présence d'immunoglobuline dans le cytoplasme. Quand la parasitémie a atteint son maximum, 10 à 18% des cellules de la rate de ces souris sensibles infectées contenaient de l'immunoglobuline, dont une partie pouvait se joindre aux GSV des trypanosomes auteurs de l'infection; nous n'avons pourtant décelé dans leur sérum aucun anticorps spécifique de ces trypanosomes. Il semble ressortir de ces observations que la répression des lymphocytes B spécifiques des trypanosomes se produit

quand la maturation de ces lymphocytes s'achève.

C'est une possibilité que nous avons examinée au moyen d'un marquage biosynthétique—tant *in vivo* qu'*in vitro*—au moyen de L-méthionine marquée au $^{35}S$, acide aminé radio-actif qui s'incorpore aux protéines récemment synthétisées, notamment aux immunoglobulines. Nous avons constaté que, chez des souris sensibles infectées par *T brucei*, les cellules qui contiennent de l'immunoglobuline la secrètent beaucoup moins bien. Il en est de même dans le cas de *T vivax*.

On peut soulager de ce blocage de la fonction lymphocytaire les souris sensibles infectées par *T brucei* ou *T vivax* en éliminant les trypanosomes. Moins de 20 heurs après le traitement de ces sujets à l'acéturate de diminazène (Bérénil de Hoechst), nous avons trouvé des anticorps dans leur sang, ce qui nous donne a penser que ce qui bloquait la sécrétion d'anticorps, c'était la présence de trypanosomes vivant ou des éléments éphémères de trypanosomes mourants.

Pour élucider le lien qu'il y a entre l'infection par trypanosomes et la répression du développement des lymphoyctes B, nous avons examiné en 1985 l'influence que l'infection par *T brucei* a sur le pouvoir que possèdent les souris de produire de l'anticorps contre d'autres sortes d'antigènes qui n'ont pas avec les trypanosomes de réaction croisée. Les globules rouges de lapin ont déclenché de vigoureuses réactions immunitaires chez des souris non infectées, mais les souris infectées ont vite perdu le pouvoir de réagir contre cet antigène. Cet effet immunosuppressif s'est dissipé moins de 24 heurs après l'élimination des trypanosomes au moyen de l'acéturate de diminazène (figure 14). Ainsi donc, la répression, du fait des trypanosomes, de la réaction immunitaire contre les globules rouges de lapin était analogue au blocage de la réaction contre les trypanosomes eux-mêmes.

Nous avons alors examiné ce qui se produirait si nous introduisions des trypanosomes dans des souris qui produisent déjà de l'anticorps contre les globules rouges de lapin. Nous avons injecté à des groupes de souris des globules rouges de lapin, et leur avons aussi injecté des trypanosomes –le même jour, ou un, deux ou trois jours plus tard. Mesurée le quatrième jour, la réaction antisomatique contre les cellules de lapin ne manifestait aucune influence des trypanosomes. De même quand nous avons pris des cellules de souris qui secrétaient de l'anti-

| Nombre de souris | Jour 0<br>Infection par *T brucei* | Jour 4<br>Globules rouges de lapin | Jour 7<br>Acéturate de diminazène | Jour 8<br>Cellules formatrices d'anticorps/500.000 cellules de la rate (± 1 SD) |
|---|---|---|---|---|
| 10 | - | + | - | 186 ± 18 |
| 10 | - | + | + | 164 ± 24 |
| 10 | + | + | - | 21 ± 6 |
| 10 | + | + | + | 149 ± 16 |
| 10 | + | - | - | 2 ± 1 |
| 10 | + | - | + | 2 ± 2 |

Figure 14 Influence d'une infection par *T brucei* (GUTat 3.1) sur la stimulation des cellules formatrices d'anticorps contre les globules rouges de lapin chez une lignée sensible de souris (C3H He). Nous avons soumis a différents régimes de traitement six groupes de 10 souris chacun. Nous avons trouvé des trypanosomes dans leur sang pendant 24 heures après leur traitement a l'acéturate de diminazène, ils ont disparu au cours des 24 heures suivantes.

corps contre les globules rouges de lapin et les avons mises en incubation, *in vitro*, avec le sérum de souris infectées, pendant jusqu'à trois jours, la sécrétion d'anticorps n'a pas cessé. Nous en concluons que, par elle-même, la présence de trypanosomes ne rend pas inactives les cellules sécrétrices d'anticorps. Pour que la réaction, due aux trypanosomes, qui empêche la maturation finale des cellules sécrétrices d'anticorps, entre en jeu, il faut plusieurs jours, et il faut aussi que les trypanosomes soient constamment présents.

La trypanosomiase cause de graves dommages à la rate, organe producteur des cellules sécrétrices d'anticorps. Il ressort de nos études de 1985 que l'infection par *T vivax* cause une sévère pathologie de la rate chez les souris sensibles, mais non chez les souris résistantes. Neuf jours après l'infection des souris sensibles, la structure de leur rate était gravement endommagée; la limite entre pulpe rouge et pulpe blanche devenait indistincte, et l'on ne pouvait plus, dans la pulpe blanche, distinguer les régions de cellules T de celles de cellules B. La multiplication des cellules était intense, leur mortalité aussi, les dépôts de fibrine étaient accrus, et il se produisait beaucoup de globules rouges, ainsi que de globules blancs de deux groupes: monocytes et polymorphonucléaires (figure 15).

Quand nous avons infecté les souris sensibles avec *T brucei*, les dégâts étaient moins sévères dans la rate, la pulpe blanche étant pourtant très endommagée. Les dégâts structuraux de l'organe n'empêchent pas le développement des cellules sécrétrices d'anticorps, mais ces cellules ne secrétaient pas.

Quand nous avons traité à l'acéturate de diminazène des souris sensibles infectées par *T vivax* ou *T brucei*, la structure de leur rate est vite redevenue normale, et les réactions antisomatiques du sérum sont devenues perceptibles. Seize heures après le traitement au trypanocide, la rate produisait des cellules «saines». Que le rétablissement ait été rapide après le traitement au trypanocide

Pour étudier le dispositif (ou les dispositifs) qui produit ces dégâts dans la rate, nous avons comparé le nombre des cellules des différentes sortes dans la rate de souris—les unes sensibles, les autres résistantes—infectées par *T brucei* ou par *T vivax*. La principale différence entre les deux groupes était que les monocytes/macrophages étaient plus nombreux, plus gros et plus riches en vacuoles dans la rate des souris sensibles que dans celle des souris résistantes, que l'infection soit due à l'une ou l'autre espèce de trypanosome. Comme les monocytes/macrophages peuvent être une source de protéases et de radicaux d'oxygène libre—qui peuvent endommager les tissus—nous cherchons maintenant à connaître la fonction de ces cellules.

Une autre hypothèse serait que les dégâts de la rate ne résultent pas directement de produits dus à l'activation de cellules de l'hôte, mais de la sécrétion, par les trypanosomes, d'enzymes ou d'autres molécules. S'il en est ainsi, les différences de sensibilité de l'hôte aux éléments des trypanosomes pourraient être dues à des différences dans le polymorphisme du substrat, ou dans la production d'inhibiteurs plasmiques. Nos recherches vont maintenant avoir pour but d'élucider le lien qu'il y a entre les dégâts des organes lymphoïdes et la mauvaise maturation des cellules B chez les souris sensibles infectées, et aussi de savoir comment se déclenchent ces phénomènes et comment ils contribuent à la répression des réactions antisomatiques chez les souris résistantes.

## PATHOGENESE. EFFETS DE LA TRYPANOSOMIASE SUR LA REPRODUCTION DES BOVINS

Une recherche à laquelle nous avons procédé en 1985 en collaboration avec le Centre de médecine vétérinaire tropicale de l'Université d'Edimbourg concernait les effets de l'infection par *T congolense* sur le

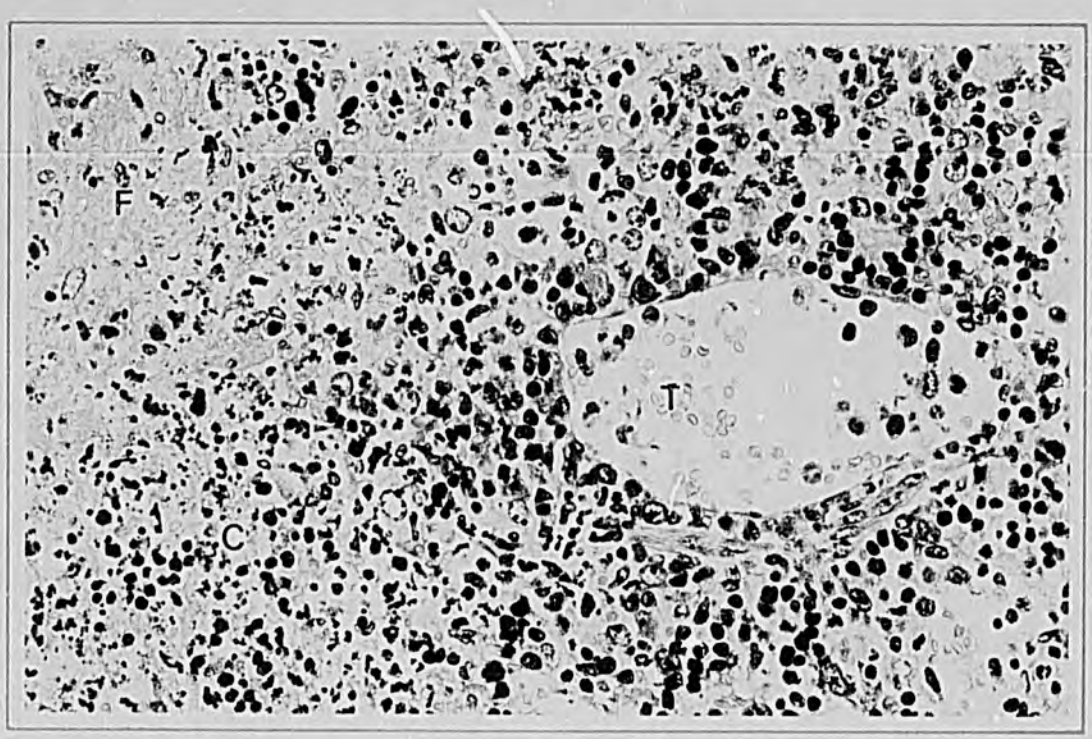



Figure 15. Coupe de la pulpe rouge de la rate d'une souris sensible (C3H/He) sept jours après son infection par *T. vivax*. On voit sur cette micrographie: la cytolyse (C), des dépôts fibrineux (F), des trypanosomes dans le vaisseau sanguin (T).

cycle reproducteur des vaches boran. Nous avons infecté par *T. congolense* deux groupes de six vaches boran et les avons traitées à l'acéturate de diminazène, les unes 60 jours après l'infection, les autres 90 jours après l'infection. Nous n'avons pas infecté les deux groupes de cinq vaches témoins, mais les avons traités à l'acéturate de diminazène en même temps que les vaches infectées.

A la suite de l'infection, 11 vaches sur 12 sont devenues acycliques, et la fonction lutéale était dérangée chez la plupart d'entre elles; mais le palper rectal n'indiquait pas de structures pathologiques. La seule vache qui ait gardé son cycle normal montrait moins de progestérone. Traitées au trypanocide, toutes les vaches infectées ont retrouvé leur cycle normal en moins de deux mois. Les vaches témoins ont gardé leur cycle normal pendant toute l'expérience, et nous n'avons rien constaté d'anormal dans leur structure ovarienne; c'est donc que le traitement à l'acéturate de diminazène n'avait eu aucun effet sur leur cycle œstral.

Cette expérience démontre pour la première fois de façon claire le rapport qu'il y a chez les bovins entre l'infection par *T. congolense* et une fécondité moindre. Mais nous n'avons pas pu faire le départ entre l'effet direct des trypanosomes sur l'activité ovarienne et l'effet de l'amaigrissement causé par l'infection.

## EPIDEMIOLOGIE

### LES DIVERSES POPULATIONS DE TRYPANOSOMES

Il y a plusieurs années que nous travaillons à mettre au point des épreuves simples, précises et sélectives pour déceler les trypanosomes chez les sujets infectés (bestiaux ou

glossines) et pour identifier ces trypanosomes selon leur espèce et leur sérodème. Cette identification est d'une grande importance, tant pour le diagnostic et le choix du traitement à appliquer que pour les études épidémiologiques, pour prévoir par exemple la gravité du risque de trypanosomiase en un endroit donné avant d'y amener des bestiaux sensibles, ou encore pour déterminer le nombre des espèces ou sérodèmes de trypanosome qu'il y a dans tel ou tel endroit, pour juger de la possibilité de maîtriser la trypanosomiase par un vaccin composé.

### Classement sérologique: l'antigène commun

Nous avons découvert une protéine dont le poids moléculaire est de 83.000 daltons et qu'on trouve chez *T b brucei*, *T congolense*, *T vivax*, *T b rhodesiense* et *T evansi*. Nous avons travaillé en 1985 à décrire cette protéine avec plus de précision. Dans toutes ces espèces, elle constitue entre 0,4 et 1,9 µg par mg du total des protéines; le microscope électronique nous a appris qu'elle se trouve dans des régions données du cytoplasme, là où la chromatine du noyau est diffuse. Nous n'avons pas trouvé cette protéine sur la membrane plasmique ou une autre membrane cellulaire. L'anticorps IgG de l'antisérum produit contre cette protéine est monospécifique; nous nous servirons de cet anticorps polyclonal monospécifique pour cribler nos banques d'expression des trypanosomes, de façon à déterminer les clones qui produisent la protéine en question. Si nous arrivons à produire cette protéine en grande quantité, nous pourrons obtenir des anticorps qui seront sans doute un utile instrument de diagnostic de la trypanosomiase.

### Classement sérologique: antigènes spécifiques

A la fin de 1985, nous avions obtenu des anticorps monoclonaux qui reconnaissaient des antigènes spécifiques des trois principales espèces de trypanosome. Employés dans un contrôle immunosorbant en sandwich, en liaison enzymatique, les anticorps monoclonaux obtenus contre *T brucei* et *T vivax* décèlent des antigènes en circulation dans le sérum de bovins infectés. L'anticorps de *T brucei* décèle aussi des antigènes dans le sérum d'êtres humains atteints de la maladie du sommeil. En 1985, nous nous sommes servis avec succès de l'anticorps de *T brucei* pour déceler des trypanosomes chez des glossines infectées. L'anticorps monoclonal obtenu contre *T congolense* reconnaît, semble-t-il bien, *T simiae* aussi bien que *T congolense*, mais il n'est pas assez sensible pour reconnaître régulièrement les antigènes dans le sérum d'animaux infectés.

Nous travaillons actuellement à isoler et purifier les antigènes spécifiques que reconnaissent ces anticorps monoclonaux. Comme dans le cas de l'antigène commun, notre but est de cribler l'ADN des trypanosomes et de trouver des clones qui produiront ces antigènes, pour nous en servir dans le diagnostic de la trypanosomiase et les recherches épidémiologiques.

### Classement sérologique: sérodèmes de *T congolense* (Kilifi)

Nos précédentes études de *T congolense* nous avaient appris que les métacycliques de cette espèce portent un petit nombre de GSV qui sont spécifiques de tel ou tel sérodème. Nous nous sommes efforcés par la suite de trouver des méthodes sérologiques pour classer les souches de *T congolense* d'après leur répertoire d'antigènes métacycliques. Nous sommes partis de 81 souches de *T congolense* prélevées en 1982 sur des bovins—les uns résidents, les autres de passage—d'une grande exploitation laitière de Kilifi, dans la Province côtière du Kénya.

Nous avons préparé, en partant des bestiaux de passage, 61 isolats. Nous avons transmis 40 de ces isolats à des souris, où nous les avons clonés; nous avons alors transmis huit clones et 12 souches, par l'in-

termédiaire de glossines (*G m centralis*). Nous avons criblé les formes métacycliques de ces clones par immunofluorescence indirecte et par des épreuves de neutralisation au moyen de sérum hyperimmun antimétacyclique. Cette méthode nous a permis de constater que les huit clones appartenaient à quatre sérodèmes distincts. Deux contrôles: attaque croisée chez des chèvres et identification des caryotypes moléculaires, ont confirmé cette constatation. Nous avons alors criblé par immunofluorescence les métacycliques des 12 souches pour juger de leur réaction à l'égard des antisérums contre les métacycliques de deux des sérodèmes; nous avons constaté que chaque lignée était un mélange de sérodèmes.

Il ressort de cette étude qu'on pourrait se servir de la caractérisation sérologique des métacycliques pour identifier les sérodèmes. Elle semble nous enseigner d'autre part que, dans la station de Kilifi, le nombre des sérodèmes de *T congolense* serait limité. En analysant le sérum des bestiaux de passage, nous avons trouvé des anticorps contre deux des sérodèmes dès trois mois après leur arrivée à la station. On est tenté d'en conclure que si l'on expose des bovins, sensibles, à l'attaque des glossines dans certaines conditions, ils peuvent arriver à acquérir l'immunité contre les sérodèmes locaux de trypanosome.

### Études *in vivo*

Au cours de nos recherches de 1985 nous avons fait transmettre à des chèvres, par des glossines (*G m morsitans*) infectées, des souches et des clones de quatre isolats de *T congolense* de Kilifi. Pour la comparaison, nous avons fait transmettre à des chèvres témoins une souche de *T congolense* (IL 1180) qui provenait de Tanzanie. Les trypanosomes de Kilifi n'ont pas produit, dans la peau des sujets, de chancre de quelque importance en comparaison des effets de la souche IL 1180, et l'infection par les trypanosomes de Kilifi n'a pas suscité de réaction immunitaire de protection contre l'attaque des formes métacycliques des mêmes souches et clones. Ces constatations *in vivo* sont sans doute pertinentes dans les recherches épidémiologiques sur la trypanosomiase à Kilifi.

### L'emploi de sondes génomiques

Grâce aux progrès de la biologie moléculaire, il existe maintenant de nouvelles possibilités pour ceux qui veulent caractériser les espèces ou groupes de populations de trypanosomes. Nous appliquons de nouvelles techniques, à l'ILRAD, pour trouver des sondes d'hybridation de l'ADN qui nous aideront à classer les trypanosomes d'Afrique. Mettre au point des sondes d'hybridation est particulièrement important pour identifier *T congolense*, cette espèce s'étant montrée très hétérogène génomiquement.

Pour disposer d'une sonde d'hybridation qui nous aide à identifier une espèce de trypanosome, nous prenons le total de l'ADN génomique d'un clone donné, et l'hybridons peu de temps, à une concentration limitée, avec l'ADN d'autres clones de la même espèce, mais qui viennent d'autres endroits. Le résultat de cette opération est d'identifier les séquences à répétition qui sont communes à tous les clones soumis à l'épreuve. Nous clonons alors ces séquences à répétition dans un vecteur (phage ou plasmide) et nous nous en servons comme sondes d'hybridation pour identifier des trypanosomes. Nous avons, en employant cette technique, préparé des sondes d'ADN en partant de: *T congolense* (ILNat 2.1); *T brucei* (ILTat 1.4); une lignée ouest-africaine de *T vivax* (IL 1392). Nous nous sommes servis de ces sondes pour déceler et identifier des infections de trypanosomes chez des glossines.

Nous avons examiné en 1985 la séquence de nucléotides qu'il y a dans le fragment d'ADN qui nous servait de sonde pour *T congolense*. Ce fragment appartient à la classe d'ADN qu'on appelle l'ADN satellite et dont on ignore la fonction. Comparé à l'ADN satellite d'autres espèces de trypanosome, celui-ci est spécifique de *T congo-*

*lense*; c'est donc un utile marqueur pour cette espèce. Essayé contre cinq échantillons de *T b brucei*, cinq de *T b gambiense*, deux de *T b rhodesiense*, 17 de *T congolense*, deux de *T evansi*, deux de *T vivax* et deux de *T simiae*, la sonde s'est hybridée avec 15 des 17 clones ou souches de *T congolense*, mais avec nulle autre espèce. Les seuls échantillons de *T congolense* que la sonde n'ait pas décelés venaient de trypanosomes trouvés à Kilifi. A partir des isolats de *T congolense* de Kilifi, nous avons préparé une sonde d'hybridation, l'avons clonée et l'avons en partie séquencée. Nous devrions pouvoir, avec cette nouvelle sonde, confirmer le rapport qu'il y a entre les trypanosomes de Kilifi et ceux d'autres endroits d'Afrique, en ce qui concerne *T congolense*. Nous avons aussi, en 1985, cloné une sonde qui ne s'hybride qu'avec l'ADN de *T simiae*, espèce importante pour les porcs et qu'il est difficile de distinguer de *T congolense* par d'autres méthodes. En 1985 encore, nous avons séquencé la sonde de *T brucei*, et constaté qu'il ne s'agissait pas d'un fragment d'ADN satellite, et qu'elle avait le pouvoir de coder une protéine trypanosomique.

Nous avions contrôlé, en 1984, la sensibilité des premières sondes produites à l'ILRAD, en nous servant pour cela de trypanosomes purifiés, extraits de spécimens de sang dilué. Nous continuons à travailler à rendre ces contrôles plus sensibles. Nous avons, en 1985, éprouvé les sondes d'hybridation contre des spécimens prélevés sur des glossines infectées. La sonde de *T congolense* a décelé, au bout d'une nuit, des trypanosomes dans le jabot des glossines infectées, et au bout de cinq heures dans leur trompe. Nous n'avons pas perçu d'hybridation chez les glossines non infectées choisies comme témoins. La sonde de *T brucei* a, au bout d'une nuit, décelé l'infection dans l'intestin moyen des glossines et leur glande salivaire; mais elle n'a pas reconnu de façon sûre les trypanosomes dans la trompe des glossines infectées, même au bout d'une semaine. La sonde de *T vivax* a décelé l'infection dans plus de 70% des substances qui provenaient de la trompe de glossines infectées.

Une expérience préliminaire nous a donné à penser qu'avec la sonde de *T brucei*, on pourrait déceler dans le fluide cérébrospinal de bêtes infectés un nombre même très petit de trypanosomes: jusqu'à 200 par ml. L'emploi de la sonde d'hybridation pour déceler des parasites dans le fluide cérébrospinal nous a donné des résultats qui sont en corrélation avec ceux d'autres méthodes. Un des avantages de l'emploi de ce procédé pour mesurer la parasitémie du fluide cérébrospinal est qu'il signale non seulement les trypanosomes vivants, mais aussi les trypanosomes morts ou en morceaux.

Nous nous sommes servis des sondes d'hybridation pour caractériser un bon nombre des spécimens dont nous disposions à l'ILRAD. La sonde de *T vivax* qui vient d'une souche ouest-africaine (IL 1392) décèle, nous l'avons constaté, les isolats est-africains de cette espèce moins facilement que ceux d'Afrique occidentale. C'est pourquoi nous avons mis au point une sonde d'hybridation spécifique pour les trypanosomes (*T vivax*) est-africains; nous nous sommes servis pour cela de l'ADN d'un isolat hémorragique de *T vivax* (IL 2337), qui vient du Kénya. En comparant des fragments de l'ADN de cet isolat à l'ADN de la souche ouest-africaine, nous avons aperçu des différences bien claires, et nous avons choisi dans l'ADN du trypanosome est-africain un fragment qui pourra sans doute nous servir de marqueur pour distinguer entre les deux groupes.

En criblant nos banques d'ADN de *T congolense* pour identifier des sondes spécifiques d'hybridation, nous avons identifié plusieurs autres séquences de nucléotides. D'après des expériences préliminaires, nous croyons que deux de ces séquences—dont la fonction est d'ailleurs inconnue—pourraient bien être d'utiles réactifs pour distinguer les trois sous-genres de trypanosome: *Trypanozoon*, *Nannomonas* et *Duttonella* (figure 16).

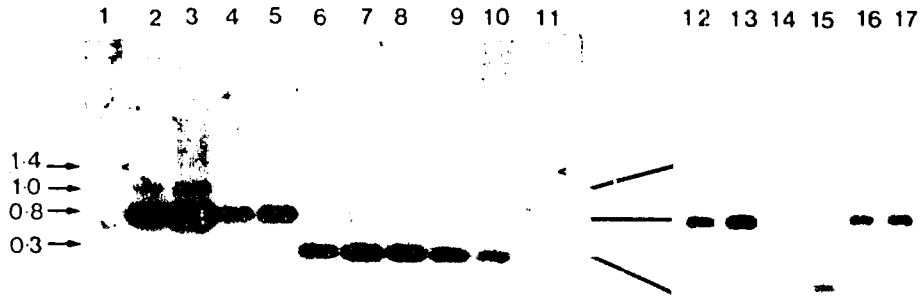



Figure 16. Hybridation de la plasmide recombinante pMLS avec l'ADN, digéré par Rsa I, de différentes espèces et sous-espèces de trypanosome. Voici leur répartition par colonnes: (1,11) *T vivax* ILDat 1.2; (2,3,4,5) *T congolense* ILNat 2.1, ILNAT 3.1, ILNaR 1, clone 776; (6) *T b brucei* ILTat 1.1; (7) *T b gambiense* LiTat 1.6; (8) *T b rhodesiense* ETat 1.10; (9) *T b brucei* ILTat 1.4; (10) *T evansi* KETRI 2443 c1; (12,13,16,17) *T congolense* AnNat 3.1, ILNat 3.1, ILRAD 2463 (du CRTA du Burkina-Faso), ILNat 2.1; (14,15) *T congolense* (Kilifi) ILNat 4.1, ILNat 5.1. La taille des fragments d'ADN est donnée en kb. Cette pMLS révèle des fragments d'ADN d'une taille égale chez les trypanosomes d'un même sous-genre.

Une fois qu'au moyen de l'hybridation avec une des sondes d'ADN que nous avons à l'ILRAD, nous avons identifié un clone ou isolat de trypanosome, nous pouvons le caractériser davantage en l'hybridant avec d'autres séquences d'ADN, clonées indépendamment. On peut ainsi caractériser les clones de trypanosome en comparant le site de telle ou telle séquence sur des molécules de différentes tailles, séparées par des enzymes qui digèrent l'ADN.

En séparant par notre électrophorèse des molécules d'ADN, de la taille d'un chromosome, prises à *T congolense* (Kilifi), nous avons constaté des profils similaires chez les clones qui, d'après l'analyse sérologique, appartenaient au même sérodème (figure 17). On pourrait peut-être se servir de ces profils – que nous appellerons des caryotypes moléculaires – pour savoir d'avance si des clones de *T congolense* ont des chances d'appartenir au même sérodème.

En ce qui concerne *T congolense* ILNat 3.1, nous avons constaté que les caryotypes moléculaires correspondaient aux profils de la résistance croisée *in vivo*. Quand nous avons infecté des chèvres avec un caryotype donnée de *T congolense*, elles ont résisté à l'attaque de *T congolense* du même caryotype, mais étaient sensibles à l'attaque de *T congolense* de caryotypes différents; elles ne faisaient pas de chancres dans le premier cas, elles en faisaient dans le second. Ces expériences nous ont appris d'autre part que le caryotype moléculaire peut être la propriété stable d'un clone donné de trypanosome: chez des trypanosomes transmis cycliquement à des caprins ou des bovins, nous n'avons pas observé de changement de caryotype, même quand nous maintenions l'infection pendant jusqu'à 90 jours dans le courant sanguin de ces bêtes.

On a découvert ces dernières années qu'il y a une notable diversité génétique chez certaines des espèces de trypanosome actuellement reconnues. C'est une diversité qui apparaît quand on décèle des différences dans la mobilité électrophorétique de certaines enzymes. On peut par exemple distinguer ainsi les spécimens de *T b brucei* qui viennent d'Afrique orientale de ceux qui

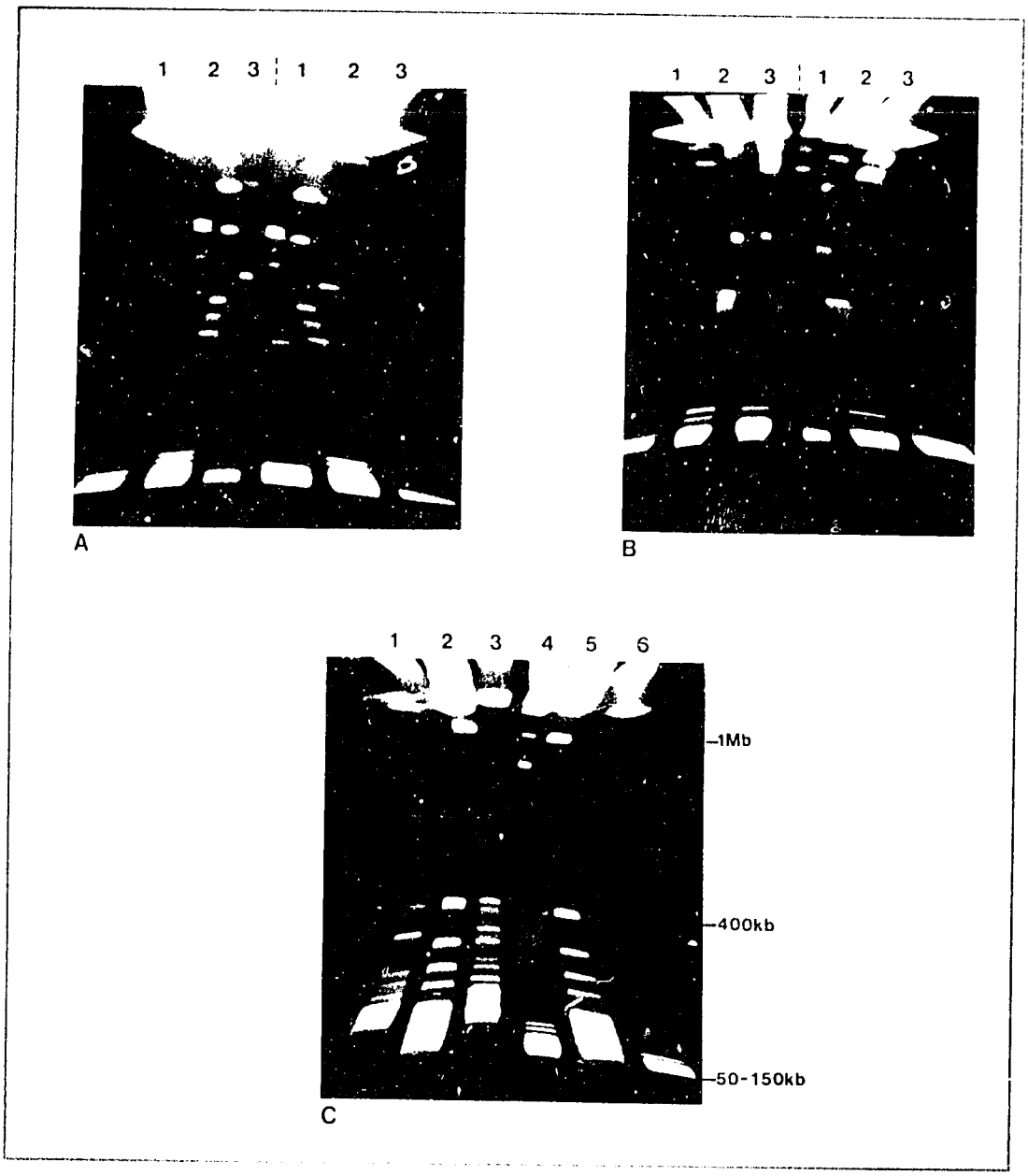



Figure 17 Caryotypes moléculaires variables chez les clones de *T congolense* de sérodèmes différents. Nous avons pris des molécules d'ADN, de taille chromosomique, dans des clones de *T congolense* dont chacun appartenait à un sérodème différent, nous les avons résolus dans un gel d'agarose à 1,5%, par OFAGE. L'intervalle des pulsations étant de 20 secondes. Au bout de 15 heures, nous avons colore ce gel et l'avons photographié. Disposition des clones dans les colonnes. (A) 1,2,3: ADN des clones ILNat 2.1, ILNat 3.1, C36. (B) 1,2,3: ADN des clones ILNat 3.1, ILNaR 1 (C57), 776. (C) ADN des clones suivants: 1: ILNat 4.1, 2: *T (T) brucei* ILTat 1.1; 3. ILNat 5.1, 4: ILNat 3.1, 5: *T (T) brucei* ILTat 1.1, 6: ILNat 2.1. ILNat 4.1 et ILNat 5.1 dérivent des isolats de Kilifi. Les clones de *T congolense* qui proviennent de sérodèmes différents ont des caryotypes moléculaires différents. Mais tous ces caryotypes diffèrent eux-mêmes nettement de ceux de trypanosomes d'autres espèces, par exemple *T brucei* (colonnes 2 et 5) comparé à *Nannomonas* de Kilifi (colonnes 1 et 3).

viennent d'Afrique occidentale; de la même façon, on a constaté que les isolats de *T congolense* qui viennent du Libéria sont distincts de ceux qui viennent d'autres régions d'Afrique.

En 1985, nous avons comparé plusieurs souches de *Nannomonas* de Kilifi avec des groupes de *T congolense* qui venaient d'autres régions d'Afrique. Plusieurs enzymes des isolats de Kilifi diffèrent, nous l'avons constaté, des enzymes des autres isolats de *T congolense* (figure 18). Tous les isolats de Kilifi que nous avons étudiés appartiennent à un groupe génétiquement distinct. Nous avons aussi analysé les enzymes d'isolats de *Nannomonas* qui venaient de Muhaka (à 100 km environ au sud de Kilifi); sur 25 isolats, 23 ressemblaient aux groupes de *T congolense* décrits jusqu'ici, mais deux avaient les enzymes caractéristiques des trypanosomes de Kilifi.

A l'occasion de recherches partiellement financées par l'AIEA, l'ILRAD a constaté que les glossines mâles stérilisées par irradiation aux rayons gamma peuvent transmettre, aussi bien que les glossines normales, les trois principales espèces pathogènes de trypanosome. Ces recherches, commencées en 1980 et achevées en 1985, ont eu pour sujet la capacité vectorielle de mâles stérilisés de sept espèces ou sous-espèces de glossine, et des souches, est-africaines ou ouest-africaines, de *T vivax*, *T congolense* et *T brucei*. Leurs résultats, résumés par la figure 19, ne présentent que des différences très petites et sans constance entre le taux d'infection des glossines irradiées et celui des glossines normales. Il faut donc en conclure, à notre avis, qu'en lâchant un grand nombre de glossines mâles stérilisées pour lutter contre l'infestation des mouches tsé-tsé, on pourrait bien augmenter les risques immédiats de trypanosomiase. Il faudrait par conséquent associer à ces lâchers d'autres mesures, d'une portée immédiate, pour lutter contre l'infection dans les populations, animales ou humaines, qui seraient en danger d'être atteints de trypanosomiase.

Beaucoup d'agents d'exécution avaient émis l'idée que seules les glossines tout récemment devenues insectes parfaits peuvent prendre et transmettre l'infection par trypanosomes. Il en résulterait que, si on lâchait des glossines stérilisées arrivées à maturité, on n'augmenterait pas le risque de trypanosomiase. Pour contrôler cette éventualité, nous avons laissé des glossines, mâles ou femelles (*G m centralis*), âgées de 30 jours, piquer une chèvre infectée par *T bru-*

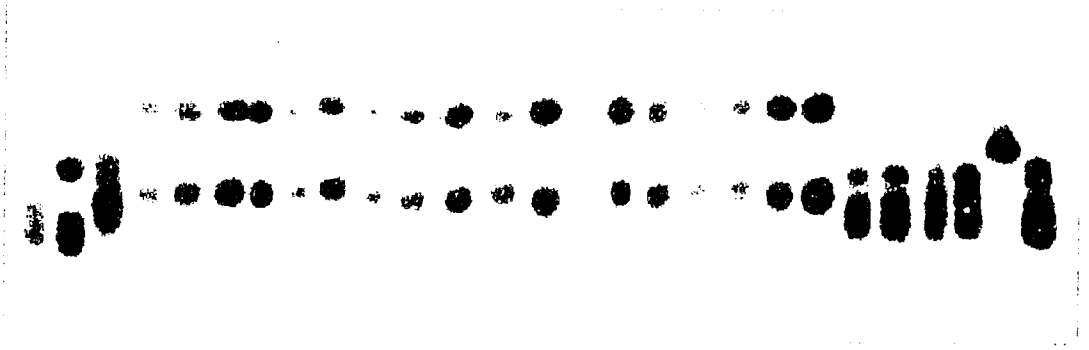


Figure 18. Mobilité électrophorétique d'une peptidase trouvée dans plusieurs isolats de *Nannomonas*. Voici quelques-uns, de ces isolats, de gauche à droite: colonne 1, IL 1180 prélevé sur un lion de Sérengéti (Tanzanie); colonne 2, IL 2411, d'Afrique occidentale; colonne 3, isolat de Muhaka (Kénya); colonnes 4 a 19, isolats de Kilifi (Kénya); colonnes 20 à 21, isolats de Muhaka (Kénya), avec des enzymes analogues à celles de Kilifi; colonnes 22 à 25, isolats de Muhaka; colonne 26, globule rouge de souris; colonne 27, IL 1180.

| Espèce de glossine | *vivax* est-africain (IL 2241) | *vivax* ouest-africain (IL 1392) | *congolense* est-africain (IL 2047) | *congolense* ouest-africain (IL 2281) | *brucei* est-africain (IL 923) | *brucei* ouest-africain (IL 2380) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *G m centralis* | | | | | | |
| Stériles | 55,9 | 49,5 | 44,0 | 55,8 | 50,9 | 12,3 |
| Féconds | 61,1 | 46,3 | 35,3 | 49,2 | 40,4 | 6,8 |
| *G austeni* | | | | | | |
| Stériles | 4,2 | 50,0 | 0,0 | 2,1 | 1,0 | 0,0 |
| Féconds | 1,8 | 54,8 | 2,0 | 3,0 | 0,2 | 0,0 |
| *G p palpalis* | | | | | | |
| Stériles | 0,0 | 45,3 | 0,5 | 1,0 | 0,4 | 0,4 |
| Féconds | 0,0 | 39,9 | 0,5 | 0,7 | 0,4 | 0,0 |
| *G p gambiensis* | | | | | | |
| Stériles | 1,8 | 58,1 | 0,0 | 0,3 | 0,0 | 0,2 |
| Féconds | 1,3 | 62,8 | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0,0 |
| *G f fuscipes* | | | | | | |
| Stériles | 0,3 | 42,2 | 1,6 | 1,5 | 1,6 | 0,0 |
| Féconds | 0,5 | 41,2 | 6,0 | 0,9 | 2,1 | 0,0 |
| *G tachinoides* | | | | | | |
| Stériles | 0,0 | 41,7 | 0,3 | 0,8 | 1,5 | 1,3 |
| Féconds | 0,3 | 41,5 | 0,3 | 2,0 | 1,0 | 0,7 |
| *G brevipalpis* | | | | | | |
| Stériles | 69,7 | 75,4 | 18,3 | 8,8 | 0,0 | 0,0 |
| Féconds | 75,3 | 81,6 | 15,7 | 6,3 | 0,2 | 0,0 |

Figure 19. Pourcentage d'infection chez les mâles arrivés à maturité de sept espèces de glossines, stérilisés aux rayons gamma et nourries sur des bêtes infectées par des souches de *T vivax*, *T congolense* ou *T brucei* d'Afrique orientale ou occidentale. Nous avons comparé tous ces groupes avec des témoins fertiles.

*cei*; nous les avons alors laissé piquer un lapin non infecté; nous les avons enfin disséquées 30 jours plus tard pour en déterminer le taux d'infection. Chez ces glossines arrivées à maturité, ce taux (14,8%) était plus faible que chez des glossines au début de l'âge adulte (27,5%) nourries sur la même chèvre; mais il était encore assez haut pour causer une forte transmission de la maladie.

Nous avons d'autre part procédé à des expériences, en 1985, pour connaître les effets de l'infection par trypanosomes sur la façon dont les glossines choisissent leurs victimes et les piquent. Nous avons infecté des glossines (*G m morsitans* et *G m centralis*) avec des trypanosomes (*T vivax*, *T congolense* ou *T brucei*), et les avons laissé piquer, 20 jours de suite, des lapins ou souris non infectés. Il n'y a eu aucune différence marquée entre les groupes de glossines infectées et ceux de glossines non infectées quant à la fréquence de leurs essais ou de leurs repas. Nous en concluons que la présence de trypanosomes dans l'intestin moyen des glossines, leur trompe ou leur glande salivaire ne dérange pas le comporte-

ment alimentaire de ces insectes.

Nous avons encore étudié les effets de l'infection par trypanosomes sur la durée de la vie des glossines et sur leur reproduction. Nous avons laissé s'accoupler des groupes de glossines femelles (*G m morsitans*) récemment arrivées à l'âge adulte, et les avons laissé se nourrir 63 jours sur des veaux ou des chèvres infectés par *T vivax*, *T congolense* ou *T brucei*. Nous avons ensuite comparé leur taux de survie et le nombre et le poids des pupes produites par elles avec les mêmes paramètres chez des glossines femelles nourries sur des veaux ou chèvres non infectés. Les différences entre glossines aux hôtes infectés et glossines aux hôtes indemnes étaient faibles et sans constance; nous en avons conclu qu'une forte morbidité de trypanosomiase dans les populations de mammifères n'a pas de mauvais effets sur les glossines.

On avait aussi émis l'idée que le taux d'infection par les trypanosomes pourrait augmenter chez les glossines si ces parasites passaient moins vite du jabot à l'intestin moyen. Pour contrôler cette éventualité, nous avons pris des groupes de *G m morsitans* récemment arrivées à l'âge adulte et les avons laissé piquer une chèvre infectée par *T b brucei*. Nous avons ensuite transféré certaines de ces glossines dans un milieu plus frais (20°C au lieu de la température normale de 25°C) pour une heure. Ce changement a eu pour effet de ralentir le mouvement des trypanosomes du jabot à l'intestin moyen. Pourtant, quand nous avons disséqué 35 jours plus tard les glossines restées vivantes, nous n'avons pas constaté de différence marquée entre les divers groupes quant au taux d'infection.

Nous avons continué à nous efforcer, en 1985, d'améliorer les méthodes sérologiques employées pour discerner la source des repas de sang des glossines. Nous avons d'abord obtenu des antisérums qui reconnaissent beaucoup d'espèces de mammifères et d'oiseaux d'après de minuscules quantités de sang pris à des glossines capturées et conservé sur du papier filtre. Normaliser des antisérums étant difficile, nous cherchons actuellement à obtenir des anticorps monoclonaux contre les protéines propres à une famille ou espèce de mammifères. En 1984 et 1985, nous avons obtenu des anticorps monoclonaux qui reconnaissent des spécimens de repas de sang dont la provenance est: les bovins; les caprins et les ovins; les pores domestiques, les potamochères et les phacochères; le taurotrague; le cob; l'oryx; les alcélaphinés (gnou, bubale et damalisque). Nous avons mis cette technique à la disposition de nos collègues de Centre international de physiologie et d'écologie des insectes (ICIPE), et nous analysons des spécimens de repas de sang des glossines pour le Centre international de trypanotolérance, en Gambie, ainsi que pour les stations du Réseau CIPEA/ILRAD de recherches sur la trypanotolérance en Afrique centrale et occidentale, en Ethiopie et au Kénya.

Nous avions, en 1983, extrait de la salive et de la glande salivaire de *G m centralis* un inhibiteur de la thrombine, l'avions purifié, et avions constaté son effet anticoagulant sur les repas de sang des glossines. Nous avons aussi identifié, dans l'intestin moyen des glossines, des enzymes fibrinolytiques qui sont probablement un dispositif de renfort, destiné à protéger les glossines, pendant leurs repas, des effets éventuellement dangereux de la coagulation du sang. Nous avons, en 1985, employé plusieurs systèmes de purification et de contrôle pour caractériser ces enzymes. Nous en avons identifié deux; ce sont des protéases sérines. Elles consistent en chaînes uniques de polypeptides dont la masse moléculaire est entre 25.000 et 30.000 daltons. La réaction des sérums immuns obtenus contre ces deux enzymes montre qu'elles sont proches parentes, ayant peut-être en commun certains déterminants antigéniques. Nous examinons de plus près les réactions des anticorps à ces enzymes; nous voulons savoir si l'on pourrait se servir de ces anticorps pour empêcher la rupture des caillots dans le jabot des glossines.

## PRODUCTION DU BETAIL EN DANGER DE TRYPANOSOMIASE

### Produits trypanocides: leur contrôle *in vitro*

Il y a plus de 50 ans qu'on emploie des trypanocides en Afrique, dans bien des endroits; mais très peu d'entre eux sont dans le commerce, et il y a plus de 25 ans qu'on n'en a pas vu de nouveau sur le marché. Un des principaux obstacles à la création de nouveaux trypanocides pour traiter les êtres humains ou les animaux est qu'essayer de nouveaux produits sur des animaux, à titre expérimental, est un procédé qui coûte cher. Il importe de plus en plus, d'autre part, de contrôler les trypanocides déjà existants parce qu'il apparaît maintenant des populations de trypanosomes qui manifestent une certaine résistance à ces produits.

Nous nous servons des systèmes de culture mis au point à l'ILRAD pour contrôler *in vitro* les effets des trypanocides sur différentes espèces ou souches de trypanosome. Nous poursuivons ce travail en collaboration avec l'Institut tropical suisse. Il est certain que la façon dont un trypanocide agit en laboratoire ne correspond pas toujours exactement à la façon dont il exerce ses effets sur le terrain; pourtant le résultat de ces contrôles nous renseigne très utilement sur la possibilité d'améliorer la lutte contre la trypanosomiase. Des produits qui se sont montrés extrêmement actifs *in vitro* mais qui agissent médiocrement sur le bétail pourront peut-être devenir utiles une fois qu'on aura modifié leur structure ou leur formule. D'autre part, un produit qui se montre trypanocide *in vivo* mais non *in vitro* risque fort d'être métabolisé: si nous trouvons de quel métabolite actif il s'agit, nous obtiendrons peut-être un plus puissant effet trypanocide.

Le système de contrôle *in vitro* par lequel nous avons commencé employait des trypanosomes (*T brucei*) cultivés avec des cellules de couches nourricières prises à des mammifères. Nous mesurions la concentration minimale du produit qu'il faut pour empêcher la croissance des trypanosomes de dépasser 50% en 24 heures de contact ($IC_{50}$). Nous avons travaillé, en 1984 et 1985, à simplifier et normaliser notre système de contrôle, et à étendre sa portée à l'action trypanocide d'un produit sur *T congolense* et *T vivax*.

On peut facilement commencer des cultures de *T brucei* en partant de métacycliques pris sur des glossines, ou bien en partant de sang parasitémique. En revanche, pour avoir en culture des formes sanguines de *T vivax* ou de *T congolense*, il est plus sûr de leur faire passer *in vitro* tout leur cycle vital, et de n'employer que la «seconde génération» pour le contrôle des trypanocides quant à leur effet sur ces deux espèces. Nous nous sommes efforcés aussi de simplifier la culture de *T congolense* et *T vivax* en éliminant le besoin de cellules de couches nourricières, mais nos efforts sont jusqu'ici restés vains.

Nous avons, en 1985, contrôlé l'effet de sept trypanocides sur *T vivax* (IL 1392), et l'avons comparé à leur effet sur *T brucei* (TC 221). Les phénanthridines (chlorure d'isométamidium—Samorin de May and Baker; chlorure d'éthidium—Novidium de May and Baker) se sont montrées plus actives contre *T vivax* que contre *T brucei*. Quant aux diamidines (l'acéturate de diminazène; l'iséthionate de pentamidine—Pentamidine de May and Baker), elles ont manifesté dans les deux cas une activité analogue. Le naphtalène (suramine—Naganol de Bayer) et la quinoline (sulfate de quinapyramine—Trypacide de May and Baker) se sont montrés beaucoup plus actifs contre *T brucei* que contre *T vivax*. Ces résultats correspondent à ce qui se passe *in vivo*. Procédant à un grand nombre d'épreuves parallèles pour chaque trypanocide, nous avons mis au point un programme informatique pour évaluer et analyser les données fournies par le criblage des produits.

On peut vouloir ne pas contrôler seulement la viabilité et la croissance des trypanosomes qu'on a attaqués avec un trypanocide, mais aussi leur caractère infec-

tieux. Quand nous avons exposé une souche de *T congolense* (IL 1180), pendant 24 heures, à une faible concentration de chlorure d'isométamidium, leur croissance n'en a pas souffert, mais ils ont perdu leur caractère infectieux pour les souris. En combinant ces deux paramètres: inhibition de la croissance et perte du caractère infectieux, on obtient un système de contrôle assez sensible pour déceler l'action trypanocide dans des spécimens prélevés sur des animaux infectés. Quand, ayant pris des spécimens de plasma sur des bestiaux boran infectés par *T congolense* et traités au chlorure d'isométamidium, nous les avons joints à des cultures de *T congolense*, ce plasma a tué les trypanosomes ou les a rendus non infectieux pour des souris. Mais, quand nous avons pris le plasma sur des bestiaux redevenus sensibles à une infection, ce plasma alimentait la croissance des trypanosomes.

Nous nous servons maintenant de ce contrôle *in vitro* pour évaluer les effets que peuvent avoir sur la viabilité des trypanosomes et leur caractère infectieux le plasma et le fluide cérébrospinal pris à des chèvres traitées avec différents trypanocides. Nous employons la chromatographie liquide à haut rendement, conjointement avec notre système de contrôle, pour essayer de quantifier les trypanocides présents dans les spécimens prélevés sur des sujets traités.

Avant de pouvoir analyser les trypanocides par chromatographie, il faut les avoir extraits du plasma. Nous retirons assez facilement du plasma l'acéturate de diminazène, et nous pouvons déceler par chromatographie des quantités de l'ordre de quelques µg. En revanche, l'extraction de la suramine est plus complexe, parce que ce produit se joint aux protéines du plasma; nous ne pouvons donc à l'heure actuelle déceler avec précision que des quantités plus grandes (de l'ordre de 200 µg/ml). Déceler du chlorure d'isométamidium dans les spécimens de plasma est aussi quelque chose de compliqué, parce que ce produit se décompose, à l'intérieur de l'hôte, en des métabolites actifs, que nous n'avons pas encore identifiés. Nous travaillons actuellement à identifier les éléments actifs qui, dans le plasma des sujets traités, diffèrent du produit dont ils viennent, et aussi à rendre plus sensibles nos procédés de détection des trypanocides dans les fluides biologiques.

On peut, sans procéder d'abord à leur extraction, mesurer directement par chromatographie les quantités de trypanocide présentes dans le fluide cérébrospinal des animaux traités. Les analyses du fluide cérébrospinal visent particulièrement à déceler le mélarsoprol (Arsobal de Spécia), seul produit d'usage courant dont on sache qu'il traverse la barrière entre le sang et le cerveau en quantités trypanocides.

## Les trypanocides et la protection qu'ils confèrent

Bien que les trypanocides soient d'un usage courant, on sait très peu de chose de la façon dont ils agissent *in vivo*, ou des facteurs qui peuvent influer sur l'efficacité de tel ou tel régime thérapeutique. Les facteurs à considérer sont en effet: le dosage du produit; l'intensité de l'attaque des trypanosomes; l'effet d'une infection antérieure au traitement par le produit; l'acquisition éventuelle de l'immunité sous le couvert de la chimioprophylaxie.

Nous avions appris, par une expérience de 1984, que le traitement au chlorure d'isométamidium (1 mg par kg de poids du sujet) protège les bovins pendant au moins cinq mois contre l'attaque réitérée de *T congolense* (IL 1180). Ce n'était que le produit, selon toute apparence, qui conférait la protection, puisque nous n'avions décelé aucun anticorps antitrypanosome dans aucun des animaux qui résistaient à cette attaque. En 1985, nous avons procédé à une deuxième expérience: nous avons traité 24 bœufs boran d'un an au chlorure d'isométamidium, et les avons attaqués ensuite tous les mois avec *T congolense* (IL 1180 ou IL 2642), pendant deux à sept mois après ce traitement (figure 20). Nous avons procédé pendant toute cette expérience à des contrôles

| Groupe | Attaque précédente | Dose du produit (mg/kg) | Attaque — Sérodème | Attaque — Méthode | Mois de la première infection Sujet: 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | — | 1 | IL 1180 | 5 glossines | 5 | 6 | - | - |
| B | — | 1 | IL 2642 | 5 glossines | 6 | 6 | - | - |
| C | — | 0,5 | IL 1180 | 5 glossines | 4 | 5 | 5 | - |
| D | IL 2642[a] | 0,5 | IL 1180 | 5 glossines | 5 | 5 | 6 | 6 |
| E | — | 0.5 | IL 1180 | 5.000 métacycliques | 4 | 4 | 6 | 6 |
| F | — | 0.5 | IL 1180 | 500.000 métacycliques | 4 | 5 | 5 | 7 |

[a]Cinq glossines infectées, quatre semaines avant le traitement.

Figure 20. Efficacité du traitement au chlorure d'isométamidium contre l'attaque des bovins par *T congolense*. Nous avons pris 24 bœufs boran d'un an et les avons divisés en six groupes de quatre. Nous avons traité tous ces groupes au chlorure d'isométamidium (1 mg ou 0,5 mg par kg), et les avons fait attaquer tous les mois par *T congolense* (IL 1180 ou IL 2326), pendant deux à sept mois après ce traitement. L'attaque s'est faite soit par l'intermédiaire de cinq glossines (*G m centralis*) infectées, soit par l'inoculation de 5.000 ou 500.000 trypanosomes métacycliques élevés *in vitro*. Nous avons en même temps, pour nous assurer du caractère infectieux de notre trypanosome, fait attaquer tous les mois des témoins non traités.

cliniques normaux. Nous avons contrôlé la parasitémie après chaque attaque, tant par observation directe que par inoculation à des souris. Nous avons vérifié la sensibilité au produit, *in vitro*, des populations de trypanosomes observées après rechute, et nous avons contrôlé chaque sujet pour savoir s'ils avaient une réaction immunitaire contre les trypanosomes. La figure 20 indique comment l'infection a commencé chez tous les sujets traités.

Dans une proportion des trois quarts, les sujets traités ont eu, quand on les infectait, une réaction cutanée moins prononcée, et une moins sévère hypertrophie du ganglion lymphatique préfémoral d'écoulement, que les témoins non traités. Chez beaucoup des animaux traités, d'autre part, la parasitémie et l'anémie concomitante ont tardé à se déclarer. Aucun des trypanosomes observées après rechute n'a montré la moindre résistance accrue au produit en question.

Les quatre sujets auxquels nous avons inoculé 500.000 métacycliques élevés *in vitro* ont tous produit, en quantités faibles mais persistantes, des anticorps contre les trypanosomes; ils étaient pourtant encore sensibles à l'infection entre quatre et sept mois après le traitement. Aucun des autres sujets n'a montré de réaction antisomatique pendant le temps où il était sous la protection du produit: nous n'avons dosé des anticorps qu'au début de la parasitémie. Les cinq sujets qui restaient réfractaires à l'infection à la fin de l'expérience n'ont pas produit d'anticorps contre les trypanosomes.

Voici le résumé de nos conclusions.

1. Les résultats de l'expérience ont été à peu près les mêmes quand il s'agissait de deux sérodèmes non apparentés de *T congolense*; on ne peut pourtant pas généraliser; car, sur le terrain, d'autres populations de *T congolense* ou des populations de *T vivax* peuvent différer en virulence ou en sensibilité au produit.
2. Bien que l'expérience n'ait porté que sur quelques bêtes, il ressort de l'analyse statistique des résultats qu'il y a un rapport direct entre le dosage du produit et la durée de la protection.
3. Une infection antérieure (groupe D) n'a aucune influence, à ce qu'il semble, sur la durée de la protection ou l'acquisition de l'immunité.
4. Etant donné les conditions de l'expérience, nous n'avons décelé aucun rapport

entre la durée de la protection et le degré de l'attaque par les trypanosomes (groupes C, E. F).
5. Pendant le temps de la protection chimioprophylactique, nous n'avons constaté des réactions immunitaires que chez les sujets soumis à des attaques répétées et extrêmement fortes (groupe F).
6. Nous n'avons aperçu aucun signe de résistance au produit. Les populations de trypanosomes observées après rechute restaient sensibles au chlorure d'isométamidium à des doses de 0,5 mg/kg (au contrôle *in vitro*).

Nous cherchons actuellement à savoir quelles conditions régissent l'apparition de réactions immunitaires de protection chez les animaux traités aux trypanocides. Nous nous servons du système de contrôle *in vitro* que nous avons mis au point à l'ILRAD pour mesurer la proportion du produit qu'il y a dans le plasma pris à des animaux traités et pour calculer la concentration qu'il en faut pour une protection effective. Nous procédons à cette recherche en collaboration avec l'Université de Glasgow (Royaume-Uni) et l'ODA.

L'étude que nous avons faite en collaboration avec le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire et l'Université libre de Berlin (Allemagne fédérale) consistait à essayer des méthodes immunologiques pour juger de l'efficacité du traitement des chameaux par typanocides curatifs. Nous avons pris dix chameaux, dépourvus, au commencement de notre étude, d'anticorps antitrypanosomes, et les avons infectés avec des clones de *T evansi* (KETRI 2443). Huit semaines plus tard, nous les avons traités, cinq à la suramine et cinq au mélarsoprol. Nous avons infecté, comme témoins positifs, trois chameaux, mais ne les avons pas traités; deux autres chameaux étaient témoins négatifs.

Nous avons régulièrement prélevé sur tous ces sujets des spécimens de sang et de fluide cérébrospinal, jusqu'à sept mois après la première infection, et nous avons procédé à plusieurs sortes d'analyse. Nous avons contrôlé la parasitémie, et déterminé par micro-électrophorèse la proportion des anticorps IgM et IgG. Périodiquement, nous avons pesé les chameaux et examiné s'ils présentaient des signes cliniques de maladie.

Les chameaux infectés ont montré les signes cliniques caractéristiques d'une infection par *T evansi*: émaciation, anémie, œdème. La subinoculation à des souris, avant le traitement, a révélé des trypanosomes dans le fluide cérébrospinal de tous les sujets; mais nous n'avons observé aucun signe clinique d'une infection du système nerveux central. Le traitement au mélarsoprol a, selon toute apparence, fait disparaître les trypanosomes, et il n'y a eu aucune rechute. La suramine, qui n'a pas d'action trypanocide dans le système nerveux central, a elle aussi, à notre avis, amené une guérison effective. Dans le groupe traité à la suramine, nous avons, par inoculation à des souris, décelé une rechute; mais nous n'avons pas trouvé de trypanosomes dans le courant sanguin de ce sujet, ni n'avons aperçu de signe clinique de la maladie. La proportion des anticorps antitrypanosomes, tant IgM que IgG, a augmenté après l'infection; mais, après le traitement, la proportion d'IgG a diminué, l'électrophorèse l'a montré. Ce qui nous donne à penser que cette électrophorèse (ELISA) pourrait être un bon instrument pour le diagnostic, sur le terrain, de la trypanosomiase des chameaux.

## Etude de la résistance à la trypanosomiase

Nous savons, grâce aux études sur le terrain, que les bovins ndama (*Bos taurus*) d'Afrique occidentale sont mieux capables de maîtriser l'infection par trypanosomes et de résister aux signes cliniques de cette maladie que le Zébu (*Bos indicus*) d'Afrique ou les races européennes de *Bos taurus*. En 1985, nous avons commencé des recherches très actives sur le mécanisme (ou les mécanismes) de la résistance des Ndamas à la trypanosomiase, en nous servant pour cela des 10 Ndamas que nous avions fait venir de

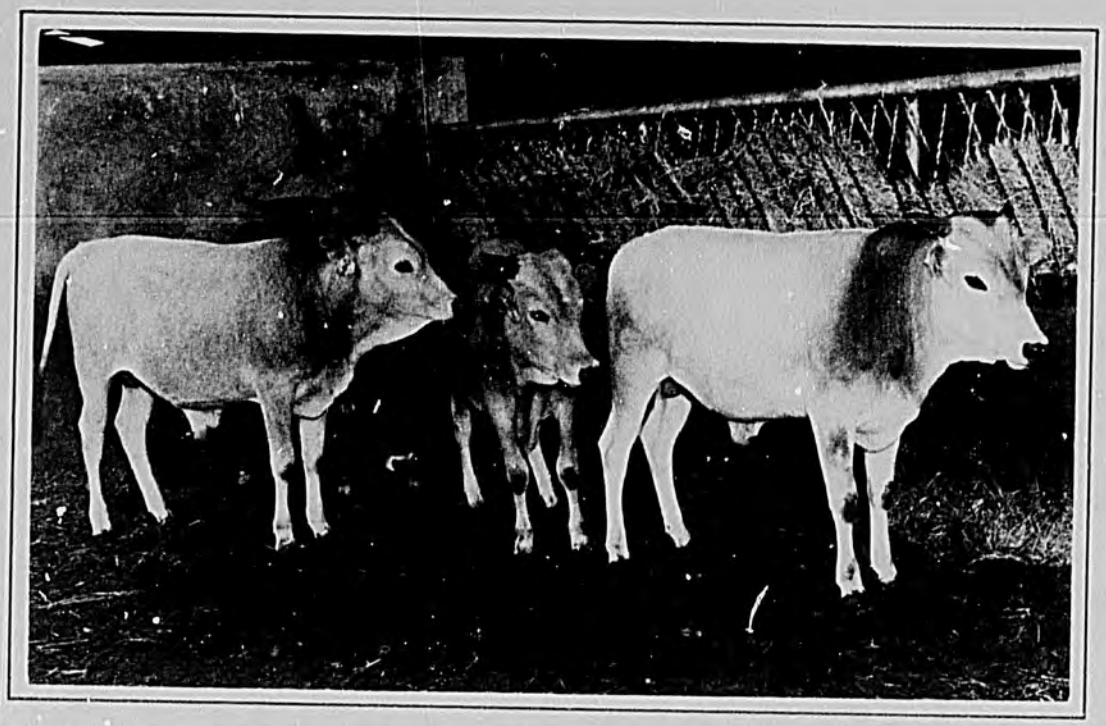


Figure 21. Taureaux ndama âgés de 18 mois. Ce sont cinq des dix Ndamas que l'ILRAD s'était procurés par transfert d'embryons et qui sont nés en 1984.

Gambie sous forme d'embryons et qui étaient nés à l'ILRAD en 1984 (figure 21).

Nous avons assorti 10 Ndamas et 10 Borans, de 12 mois et d'un poids de 140 kg en moyenne. Nous avons gardé dans chaque groupe deux sujets témoins. Quant aux 16 bovins restants, nous avons exposé chacun d'eux à huit morsures de glossines (*G m centralis*) infectées par *T congolense* (IL 1180).

Nous avons mesuré tous les jours, pendant 21 jours, l'épaisseur de leur peau à l'endroit des piqûres, et nous avons prélevé de la peau pour une biopsie sur quatre sujets de chaque groupe cinq, huit, 12, 15 et 21 jours après l'infection. Nous avons mesuré l'hématocrite et la parasitémie tous les jours pendant les quatre premières semaines, et deux fois par semaine ensuite, jusqu'à cinq mois après l'infection. Nous avons traité à

| Réaction cutanée | Ndamas | Borans |
|---|---|---|
| Jours jusqu'au maximum d'épaisseur | 10,00 ± 0,2 | 10,20 ± 0,6 |
| Epaisseur (cm) au jour 0 | 0,79 ± 0,2 | 0,66 ± 0,2 |
| Epaisseur maximale (cm) | 1,60 ± 0,2 | 1,18 ± 0,3 |
| Pourcent d'épaississement | 102 | 79 |

Figure 22. Réaction cutanée de Ndamas et Borans d'un an, après l'attaque de *G m centralis* infectées par *T congolense* (IL 1181). Nous avions exposé huit bêtes de chaque groupe aux piqûres de huit glossines infectées chacune. Aucune de ces bêtes n'avait auparavant risqué la trypanosomiase.

l'acéturate de diminazène les sujets dont l'hématocrite descendait à 15% ou plus bas. Nous avons examiné tous les sujets cliniquement, deux fois par semaine les trois premiers mois et une fois par semaine ensuite. Nous avons compté les globules blancs et les globules rouges, les plaquettes et les réticulocytes, et avons consigné la proportion d'hémoglobine et les comptages différentiels de globules blancs. Nous avons consigné chaque semaine le poids de chaque sujet.

Les Ndamas comme les Borans ont fait des chancres à tous les endroits de piqûre. Les deux groupes ont atteint à peu près en même temps le maximum d'épaisseur de leur peau (figure 22).

Nous avons décelé des trypanosomes dans le sang des Ndamas un jour plus tôt, en moyenne, que dans celui des Borans, et les Ndamas arrivaient au maximum de leur parasitémie un jour plus tôt, en moyenne, que les Borans. Le niveau de ce premier maximum était, chez les Ndamas, légèrement inférieur; de 40 jours à cinq mois après l'infection, ils ont eu une parasitémie constamment plus faible que les Borans (figure 23).

L'hématocrite de six Borans sur huit est tombé à 15% entre 25 et 50 jours après l'infection; nous les avons traités à l'acéturate de diminazène (figure 24). Les Ndamas et les deux Borans non traités ont manifesté la plus grave anémie 50 jours après l'infection: l'hématocrite des Ndama était alors de 22%

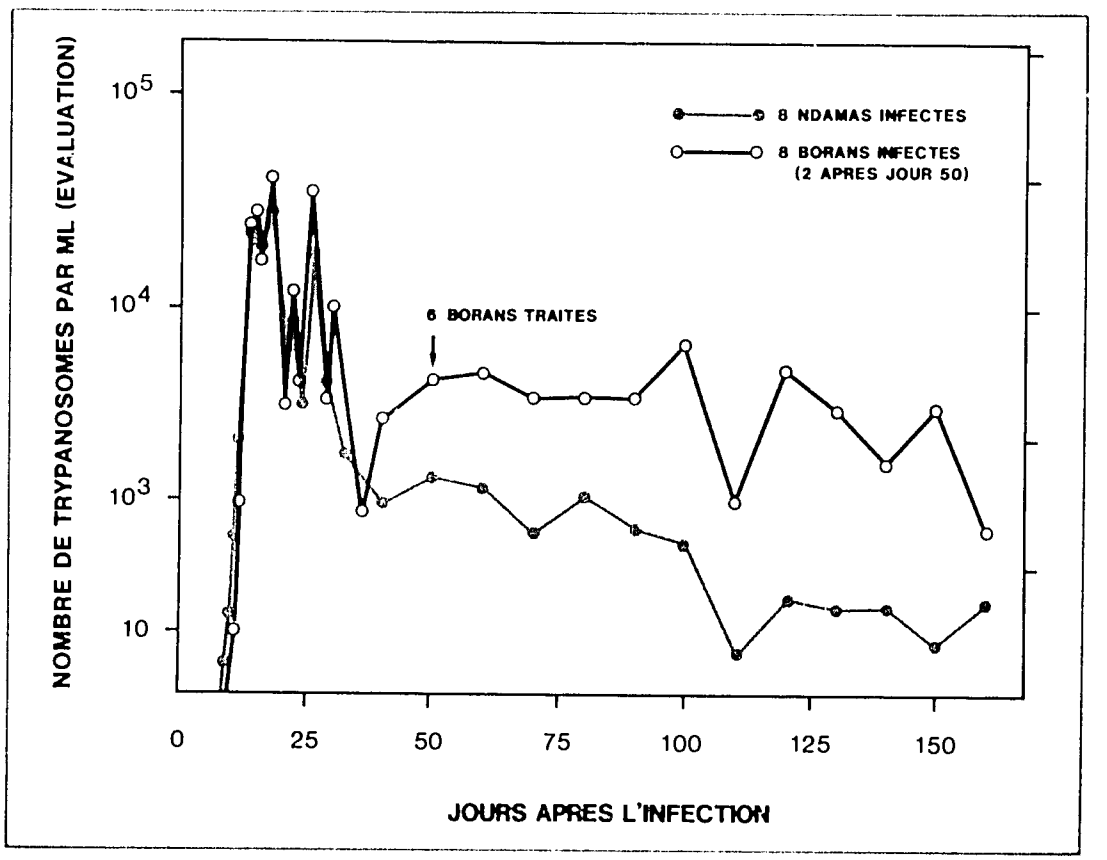



Figure 23 Nombre moyen des trypanosomes (evaluation) par ml de sang jugulaire de huit Ndamas et huit Borans infectes, par l'intermediaire de glossines, par *T congolense* (IL 1180). Nous avons traite a l'acéturate de diminazene six des Borans, vers le cinquantième jour; aucun des Ndamas n'a eu besoin de traitement

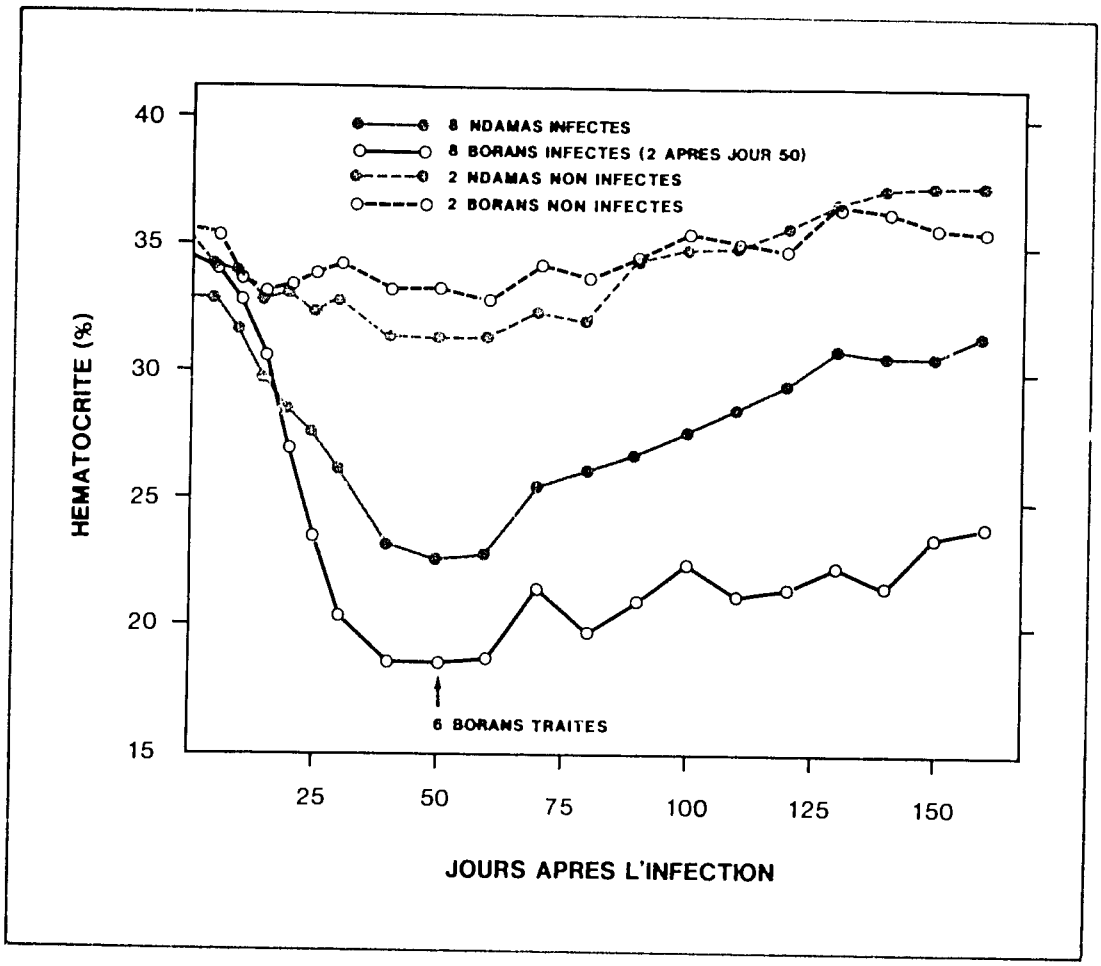



Figure 24 Hematocrite moyen de huit Ndamas et huit Borans infectés, par l'intermédiaire de glossines, par *T congolense* (IL 1180). Nous avons traité à l'aceturate de diminazène six des Borans, vers le cinquantième jour, quand leur hématocrite est tombé à 15%; aucun des Ndamas n'a eu besoin de traitement.

en moyenne, et celui des Borans de 18%. Après cela, les Ndamas se sont rétablis graduellement et ont atteint un hématocrite normal 120 jours au plus tard après l'infection, mais on pouvait encore découvrir des trypanosomes dans leur sang. Voici le résumé de nos conclusions.

1. Pendant les 20 premiers jours après l'attaque de *T congolense* transmis par les glossines, les réactions sont similaires chez les Ndamas et les Borans non exposés auparavant à la trypanosomiase.

2. Les Borans risquent fort de mourir de 20 à 50 jours après l'infection par *T congolense*, à moins d'être traités, alors que les Ndamas commencent à ce moment-là à maîtriser la parasitémie.

3. Les Ndamas commencent à maîtriser l'anémie 25 jours environ après l'infection par *T congolense*; leur hématocrite commence à remonter le cinquantième jour et atteint un pourcentage normal au bout de 120 jours après l'infection, sans qu'on les traite.

4. La croissance des Ndamas d'un an subit un retard de 10 à 15% pendant cinq mois d'infection par *T congolense*.

Nous allons ensuite attaquer le groupe des huit Ndamas infectés avec un sérodème non

apparenté de *T congolense*. Nous comparerons leurs réactions à cette seconde attaque avec leurs réactions précédentes.

En 1985, les chercheurs de l'ILRAD qui étudient la trypanosomiase chez les bêtes sauvages ont comparé la réaction cutanée et la production d'anticorps chez quatre buffles et chez quatre bovins sensibles infectés, au moyen de glossines, par *T congolense* (IL 1180). Ils ont procédé à cette recherche en collaboration avec le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire et avec l'appui partiel du Gouvernement néerlandais. Les réactions cutanées à l'endroit des piqûres des glossines infectées étaient beaucoup moins sévères chez les buffles que chez les bovins, à en juger par la variation de l'épaisseur de la peau. Les chercheurs n'ont jamais découvert de trypanosomes dans les sections histologiques de la peau des buffles, qui pourtant étaient infectés tous les quatre. Ils ont constaté de sévères destructions du collagène dans la peau des bovins, mais non dans celle des buffles. Chez les buffles, la réaction cutanée était en visible diminution 18 jours après l'infection, moment où les bovins ne montraient aucun signe de régression.

Nos chercheurs ont décelé des trypanosomes plus tôt dans le sang des bovins (10 à 12 jours après l'infection) que dans celui des buffles (18 à 27 jours après l'infection). La parasitémie était sensiblement plus faible chez les buffles; au bout de 30 jours, on ne décelait plus de trypanosomes chez eux. L'analyse sérologique du sang prélevé sur les buffles a révélé des anticorps capables de neutraliser les métacycliques de *T congolense* dès 15 jours après l'infection. Chez trois buffles sur quatre, on a pu observer ces anticorps neutralisants plusieurs jours avant de déceler des trypanosomes dans le courant sanguin. Au contraire, il a fallu que la parasitémie soit très forte, selon nos observations, avant que les bovins n'aient une réaction antisomatique: ce n'est que 25 jours après l'infection qu'on a commencé à apercevoir des anticorps neutralisants chez les bovins, plus de 10 jours après avoir décelé des trypanosomes dans le sang. L'évolution de la résistance chez le buffle, telle que cette expérience a permis de l'observer, diffère notablement de ce qu'elle est chez les bovins ndama, à en juger par l'expérience rapportée plus haut.

## Le réseau de recherches sur la trypanotolérance

L'ILRAD participe au réseau de recherches, coordonné par le CIPEA, sur la trypanotolérance. Ce réseau comprenait en 1985 des stations de recherche situées dans six pays d'Afrique occidentale et centrale (Gabon, Zaïre, Nigéria, Côte d'Ivoire, Togo et Gambie) ainsi que des opérations de recherche au Kénya et en Éthiopie. L'objectif de cette entreprise est d'obtenir des données exactes et comparables sur la santé et la productivité de différentes races de bétail, dans différentes zones écologiques, sous différents régimes de gestion, et en plus ou moins grand danger de trypanosomiase. Ces données sont essentielles si l'on veut organiser le progrès de l'élevage dans la région et évaluer ce progrès, en ce qui concerne notamment les mesures prises ou à prendre pour maîtriser la trypanosomiase.

Nous nous intéressons particulièrement, à cet égard, aux races taurines indigènes d'Afrique occidentale qui se sont montrées résistantes à la trypanosomiase: les Ndamas et les Shorthorns ouest-africains. A la plupart des stations du réseau, on peut comparer la santé et la productivité de ces races à celles des bestiaux sensibles élevés dans les mêmes conditions. Les races locales de moutons et de chèvres manifestent elles aussi une certaine résistance à la trypanosomiase.

Le rôle de l'ILRAD a été d'énoncer et enseigner la façon de procéder pour contrôler les populations de glossines, le taux d'infection par trypanosomes chez les glossines et chez le bétail, et l'état de santé des bêtes sur qui portait cette étude. C'est aussi à l'ILRAD qu'il appartient essentiellement de mettre en vigueur dans les stations de cette

étude des mesures de lutte contre la trypanosomiase, et de juger de leur efficacité. Le CIPEA se charge des études de productions animales et de nutritions ainsi que du traitement des données.

Autre importante contribution de l'ILRAD aux travaux de ce réseau: en collaboration avec le CIPEA, il dirige des stages de formation accélérée pour les agents d'exécution. Il y a normalement chaque année à l'ILRAD deux stages de formation de sept semaines, l'un en français et l'autre en anglais. A la fin de 1985, 41 membres du personnel du réseau de trypanotolérance avaient reçu une formation.

Les données rassemblées au Gabon depuis 1981 concernent les Ndamas trypanotolérants, les Ngunis sensibles à la trypanosomiase, et leurs hybrides. L'étude a lieu dans une station d'Etat, située dans la zone des forêts ombrophiles. Trois espèces de glossine infestent cette station; le taux d'infection par trypanosomes est sérieux, tant chez les glossines que chez les bovins sensibles (figure 25). Trois régimes de traitement s'appliquent aux bestiaux: traitement prophylactique total, prophylaxie partielle, ou traitement curatif quand la maladie se manifeste. L'analyse préliminaire des données rassemblées depuis deux ans et demi sur la santé des bêtes nous a appris que les bestiaux infectés maigrissaient pendant que les bestiaux non infectés engraissaient. D'autres données (figure 25) nous apprennent que les Ndamas risquaient moins d'être infectés, faisaient moins d'anémie (meilleur hématocrite en moyenne) en avaient moins souvent besoin de trypanocides que les bestiaux sensibles ou les hybrides.

Les études commencées au Zaïre en 1983 ont lieu dans deux grandes stations d'élevage de caractère privé (figure 26). A la station de Kolo, 25.000 Ndamas sont dans une zone dont la trypanosomiase est absente. Ces recherches doivent prendre fin en 1986 et doivent nous procurer sur la productivité des données qui serviront de référence pour comparer la production des Ndamas selon différents systèmes de gestion et différents risques de trypanosomiase. A la station de Mushi, il y a 16.000 Ndamas dans une zone où le risque de trypanosomiase est sérieux. On traite certains sujets à l'acéturate de diminazène quand la trypanosomiase se manifeste. Une troisième station du Zaïre, la station de production villageoise d'Idiofa, est venue s'adjoindre au réseau en 1985; les paysans y avaient fait la connaissance des Ndamas en 1957. Grâce aux données rassemblées là sur la santé des bestiaux et leur productivité, nous aurons de quoi nous guider utilement sur la capacité de production des Ndamas sous un régime d'élevage villageois.

En deux endroits de la Côte d'Ivoire, Boundiali et Tengréla, les recherches ont commencé en 1983, en collaboration avec la Société d'Etat pour le développement de la production animale (SODEPRA) de Côte d'Ivoire, et la Gesellschaft für technische Zusammenarbeit (GTZ) d'Allemagne fédérale. Les éleveurs locaux élèvent des bovins

| Race | Pourcent d'infection | Hématocrite (%) | Traitements au produit, par an |
|---|---|---|---|
| N'damas | 5 | 35 | 0,6 |
| Ngunis | 27 | 28 | 4,4 |
| Hybrides | 13 | 30 | 2,4 |

Figure 25. Indices de la santé animale de Ndamas (*Bos taurus*), Ngunis (*Bos indicus*), et bovins hybrides, élevés à la station d'Okouma (Gabon) où le risque de trypanosomiase est moyen. Nous avons traité à l'acéturate de diminazène les bestiaux infectés. Ces chiffres sont les moyennes de nos observations de deux ans et demi.

et des ovins selon un régime de production qui est semi-nomade (figures 26 et 27). La densité d'infestation des glossines est à peu près la même aux deux endroits, mais le risque de trypanosomiase, calculé d'après le taux d'infection des glossines, est plus grand à Boundiali qu'à Tengréla. Plusieurs facteurs rendent les recherches difficiles: la morbidité est complexe: trypanosomiase, maladies transmises par les tiques, helminthiase, et le risque de peste bovine et de peste des petits ruminants (PPR); les bestiaux se déplacent: il est impossible de consigner tous les traitements trypanocides. Malgré tout, les données recueillies là doivent être représentatives des régimes de production pratiqués dans les vastes régions semi-arides d'Afrique occidentale.

En collaboration avec le Centre de recherche et d'élevage (CREAT) et avec la GTZ, les agents d'exécution du réseau contrôlent la production bovine, ovine et caprine dans deux stations villageoises du Togo, Avétonou et Sokodé (figures 26 et 27). Les chercheurs du Programme des petits ruminants de la zone humide (du CIPEA) recueillent eux aussi des données sur la nutrition et la santé des chèvres dans quatre stations villageoises de Nigéria. La figure 27 reproduit les résultats préliminaires de cette recherche.

l'ILRAD participe à l'opération engagée

| | | Glossines | | Bovins | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Pays, station | Espèce | Densité moyenne | Morbidité moyenne | Race | Cheptel étudié | Morbidité mensuelle (moyenne) |
| Gabon | | | | | | |
| Moanda (Station) | *palpalis* | 0,30 | 20,2 | Ndamas | 900 | 5,0% |
| | *tabaniformis* | 0,36 | 23,0 | Ngunis | 100 | 27,0% |
| | *nashi* | 0,06 | 8,8 | Hybrides | 200 | 12,5% |
| Zaïre | | | | | | |
| Kolo (station) | *palpalis* | 0,54 | 0,3 | Ndamas | 650 | 0,0% |
| Mushi (station) | *fuscipes* | 0,93 | 2,6 | Ndamas | 650 | 7,3% |
| | *tabaniformis* | 5,28 | 11,2 | | | |
| Côte-d'Ivoire | | | | | | |
| Boundiali (village) | *palpalis* | 0,61 | 20,5 | Ndamas | 50 | 14,7% |
| | *tachinoides* | 0,26 | 20,4 | SAO | 300 | 13,9% |
| | *morsitans* | 0,01 | ? | Zébus | 20 | 32,8% |
| | | | | Hybrides | 200 | 19,5% |
| Tengréla (village) | *palpalis* | 0,94 | 4,2 | Ndamas | 40 | 3,0% |
| | *tachinoides* | 0,07 | 10,4 | SAO | 30 | 2,7% |
| | | | | Zébus | 10 | 3,9% |
| | | | | Hybrides | 300 | 3,5% |
| Togo | | | | | | |
| Avétonou (station et village) | *palpalis* | 0,10 | 14,3(?) | Ndamas | 200 | 3,9% |
| | *tachinoides* | 0,10 | 9,1(?) | SAO | 240 | ? |
| | | | | Hybrides | 60 | ? |

Figure 26. Fréquence des glossines, cheptel bovin et taux d'infection par les trypanosomes, tant chez les glossines que chez le bétail, dans six stations d'étude de la trypanotolérance en Afrique occidentale et centrale. Nous indiquons la densité des glossines par le nombre moyen des individus pris chaque jour dans chaque piège. SAO signifie Shorthorns d'Afrique occidentale.

en 1982, par le Ministère kényen de l'agriculture et du développement de l'élevage, au village de Muhaka, près de la côte de l'Océan indien. Il s'agit de mesurer la densité des glossines à cet endroit, et de contrôler la santé et la productivité d'environ 500 Zébus d'Afrique orientale. A partir d'avril 1984, les deux tiers de ces bêtes ont subi quatre fois par an un traitement par produits prophylactiques; le tiers restant n'a reçu qu'un traitement curatif le cas échéant. L'hématocrite des bénéficiaires du traitement préventif a été en moyenne de 27,2% pendant la première année de traitement, contre 26,4% chez les autres. En moyenne mensuelle, 3,1% des bêtes sous traitement préventif ont eu besoin du traitement curatif, contre 8,1% par mois chez les autres; pendant une période de 12 mois, l'engraissement moyen a été, chez les Zébus sous traitement prophylactique, supérieur de 33% à ce qu'il a été chez les autres.

Une vaste opération de progrès de l'élevage a commencé en 1984 en Gambie, sous les auspices du Centre international de la trypanotolérance. L'ILRAD collabore, avec ce Centre et le CIPEA, aux recherches que demande cette opération et qui ont commencé en 1985. Les études entomologiques ont l'appui de l'ODA, mais c'est la CEE qui finance les travaux CIPEA/ILRAD qui concernent la productivité des Ndamas. Nous contrôlons la santé et la productivité de 2500 bovins dans deux stations villageoises de Gambie: Gunjur et Kénéba; deux autres stations vont encore faire partie du réseau, l'une à Bansang (Gambie) et l'autre au Sénégal. Nous avons l'intention d'étudier aussi les mécanismes et la base génétique de la trypanotolérance chez les Ndamas, et de mettre à l'épreuve de nouvelles méthodes de lutte contre la trypanosomiase.

| | — Glossines — | | | — Petits Ruminants — | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Pays, station | Espèce | Densité moyenne | Morbidité moyenne | Espèce | Cheptel étudié | Morbidité mensuelle (moyenne) |
| Nigéria | | | | | | |
| Fashola | *palpalis* | 0,10 | ? | Chèvres | 175 | 3,5% |
| | *tachinoides* | | | | | |
| Côte-d'Ivoire | | | | | | |
| Boundiali | *palpalis* | 0,61 | 20,5 | Moutons | 240 | 7,4% |
| | *tachinoides* | 0,26 | 20,4 | | | |
| | *morsitans* | 0,01 | ? | | | |
| Tengréla | *palpalis* | 0,94 | 4,2 | Moutons | 300 | 1,9% |
| | *tachinoides* | 0,07 | 10,4 | | | |
| Togo | | | | | | |
| Avétonou | *palpalis* | 0,10 | ? | Moutons | 180 | 1,9% |
| | *tachinoides* | 0,10 | ? | | | |
| Sokodé | *palpalis* | 0,04 | ? | Chèvres | 80 | 7,0% |
| | *tachinoides* | 0,59 | 4,0 | Moutons | 200 | 4,1% |

Figure 27. Fréquence des glossines, cheptel et taux d'infection par les trypanosomes, tant chez les glossines que chez les petits ruminants, dans cinq stations villageoises d'Afrique occidentale. Nous indiquons la densité des glossines par le nombre moyen des individus pris chaque jour dans chaque piège. Toutes les chèvres sont de la race naine d'Afrique occidentale; les moutons sont des Djallonkés. On considère que ces deux races ont une certaine résistance à la trypanosomiase.

# SERVICES DE FORMATION ET D'INFORMATION

## FORMATION

L'œuvre de formation de l'ILRAD prend plusieurs formes: programmes individuels pour chercheurs ou pour techniciens, formation supérieure pour des licenciés qui visent la maîtrise ou le doctorat, postes pour de jeunes chercheurs titulaires du doctorat. Il y a en outre chaque année des stages et congrès de formation. Il s'agit principalement de former, dans les pays d'Afrique où la trypanosomiase et la PCO constituent de gros problèmes de santé animale, des spécialistes de la recherche vétérinaire et de la lutte contre ces maladies. Les dépenses de formation représentent près de 10% du budget total de l'ILRAD.

En 1985, 17 chercheurs ou techniciens sont venus étudier à l'ILRAD pendant des périodes dont la durée variait entre deux semaines et 16. Nous avons organisé pour eux des programmes individuels selon les besoins des institutions qui nous les envoyaient. Ils venaient de 10 pays d'Afrique: Burundi, Burkina-Faso, Ethiopie, Gabon, Kénya, Nigéria, Ouganda, Sénégal, Zambie, Zimbabwé. Deux d'entre eux dépendaient chez eux d'une université, cinq faisaient partie du réseau CIPEA/ILRAD de recherches sur la trypanotolérance, les dix autres étaient techniciens de laboratoire dans leur organisation nationale de recherche vétérinaire.

Les licenciés passent à l'ILRAD d'un à quatre ans pour satisfaire aux exigences d'un diplôme supérieur; ils y sont boursiers d'études. Il y a eu en 1985 18 boursiers d'études qui travaillaient avec des chercheurs de l'ILRAD sur des sujets étroitement liés à notre programme de recherches. Quatre boursiers temporaires ont aussi travaillé à l'ILRAD en 1985, mais pendant de plus courtes périodes. Quatre boursiers visaient la maîtrise, un boursier le diplôme de médecine vétérinaire, et les autres le doctorat. Nous avons envoyé deux d'entre eux achever à l'étranger leur formation supérieure. Trois boursiers d'études ont obtenu leur diplôme en 1985. Les boursiers d'études de 1985 venaient des pays suivants: Ghana, Kénya, Nigéria, Ouganda, Tchad, Zaïre, Allemagne fédérale, Belgique, Etats-Unis, Italie, Pays-Bas, Royaume-Uni. L'ILRAD a financé en tout ou en partie les stagiaires africains; ceux qui venaient d'ailleurs bénéficiaient du soutien financier de leur pays.

L'ILRAD engage internationalement ses boursiers titulaires du doctorat. Ils passent deux ans au Laboratoire, à des travaux qui contribuent directement à son programme de recherches. Il y a eu à l'ILRAD, en 1985, 13 boursiers titulaires du doctorat: cinq venaient des Etats-Unis, deux du Kénya, et un de chacun des pays suivants: Allemagne fédérale, Belgique, France, Japon, Royaume-Uni, Rwanda.

Il y a depuis 1985 une nouvelle catégorie de stagiaires; un programme spécialement conçu pour eux s'adresse à de jeunes chercheurs des pays en développement, des pays d'Afrique en particulier. Au titre de ce programme, ils viennent de leur université ou institut de recherche travailler à l'ILRAD,

pendant une période de six à 12 mois, comme boursiers de recherche. Le premier de ces boursiers de recherche est venu, en 1985, du département de biochimie de l'Université de Naïrobi.

Outre cette œuvre de formation individuelle, l'ILRAD a organisé en 1985 trois stages de formation. Un stage de trois mois, de septembre à novembre, portait sur la préparation et l'emploi de réactifs pour le diagnostic des maladies bovines à hématozoaires. Il y avait six stagiaires, venus du Burundi, du Kénya, du Sénégal et de la Zambie.

Deux stages, organisés en liaison avec le réseau CIPEA/ILRAD de recherches sur la trypanotolérance, ont eu lieu au premier semestre. Le stage de sept semaines, en avril-mai, comptait six participants, venus de l'Ethiopie, du Mozambique, de la Gambie et du Zaïre. C'était le septième stage organisé pour le personnel du réseau. Comme lors des stages précédents, il s'agissait du diagnostic de la trypanosomiase, de l'helminthiase et des maladies transmises par les tiques, et de la lutte contre ces trois groupes de maladies. Le stage concernait surtout les côtés pratiques du diagnostic clinique: collecte et analyse d'éléments de diagnostic, autopsie des bovins et des caprins. La formation à l'étude de la production animale concernait surtout les données à consigner et comment les analyser. Autres sujets de ce stage: identifier les glossines, calculer leur âge et les disséquer; déterminer le taux d'infection par trypanosomes; prélever et préparer des spécimens des repas de sang des glossines. Les participants ont pratiqué dans la forêt de Kibwézi les techniques de capture des glossines. Le stage de deux semaines, en juin, visait à améliorer les normes des recherches sur les glossines dans les stations du réseau. Il y a eu quatre participants, venus du Bénin, de la Gambie et du Togo.

Il y a eu à l'ILRAD, en mai 1985, une réunion internationale d'étude sur les antigènes des parasites; 14 chercheurs éminents, venus de tous les coins du monde, s'y sont entretenus de leurs travaux avec les chercheurs de l'ILRAD, de l'ICIPE, des Universités de Naïrobi et de Yaoundé, du Laboratoire kényen de recherche vétérinaire, de l'Institut kényen de recherches sur la trypanosomiase, et de l'Organisation ougandaise de recherches sur la trypanosomiase. Le but de cette réunion était de faire le point des recherches qui visent à caractériser les antigènes des parasites, à les produire, et à s'en servir pour mieux lutter contre les maladies. Les participants ont discuté aussi des obstacles qui gênent ces recherches, ainsi que des nouvelles méthodes proposées pour améliorer la lutte contre les maladies parasitaires. Les Services d'information de l'ILRAD ont publié le résumé de ces débats.

Il y a eu en septembre une autre réunion internationale d'étude, pour examiner la façon d'appliquer en Afrique orientale et centrale les programmes d'immunisation contre la FCO. Il y avait eu précédemment, en octobre 1984, une réunion conjointe ILRAD/FAO, sur l'immunisation contre la FCO. Celle de 1985 a porté sur les méthodes d'immunisation contre la FCO, ainsi que sur la collecte et l'analyse des données relatives à la productivité des bovins immunisés. Lors des séances consacrées à la gestion des données et aux techniques d'évaluation économique, il y a eu des démonstrations pratiques à l'aide de micro-ordinateurs. Cette réunion d'étude comptait 24 participants, qui représentaient des organisations de recherche, des opérations sur le terrain, ou des services vétérinaires nationaux, au Burundi, au Kénya, au Malawi, en Zambie et au Zimbabwé. Nous avons publié en 1986 un rapport sur cette réunion d'étude.

Pendant toute l'année, les chercheurs de l'ILRAD et ceux qui travaillent temporairement dirigent des colloques, où ils font connaître les résultats des opérations en cours. Il y a eu en tout 30 colloques de ce genre en 1985, dont un colloque tout spécial sur la caractérisation des isolats de trypanosomes de Kilifi. Ces colloques sont très suivis, tant par le personnel de l'ILRAD que par les

chercheurs d'autres institutions de recherche de la région de Naïrobi.

L'ILRAD a fourni son appui financier à deux chercheurs, l'un d'Ethiopie et l'autre du Zaïre, pour leur permettre de participer au cinquième Colloque annuel sur la lutte contre les glossines et la trypanosomiase, colloque qui s'est tenu à Hararé (Zimbabwé) en février et mars 1985, sous le patronage de l'OUA, la FAO et l'OMS. Il a aussi soutenu financièrement deux chercheurs, l'un de l'Inde et l'autre du Nigéria, pour leur permettre de participer au septième Congrès international de protozoologie, tenu à Naïrobi en juin 1985. Il a en outre pris à sa charge les frais d'inscription à ce Congrès de 18 chercheurs ou étudiants kényens.

L'ILRAD met ses salles de conférence à la disposition de toute une série de réunions ou colloques placés sous le patronage d'autres organisations. En 1985, les plus importantes de ces réunions ont été: la Réunion de coordination des recherches sur la production ovine et caprine, patronnée par l'AIEA; l'assemblée générale annuelle de l'Association vétérinaire du Kénya; le stage régional de formation dirigé par le Centre international des pommes de terre au sujet du germoplasme; la réunion d'étude patronnée par l'Université de Naïrobi au sujet de la nutrition animale; un important examen interne du réseau CIPEA/ILRAD de recherches sur la trypanotolérance.

## SERVICES D'INFORMATION

La tâche essentielle des Services d'information de l'ILRAD est d'éditer et diffuser le Rapport annuel ainsi que le bulletin trimestriel, *ILRAD Actualités*, en anglais et en français. Ils font aussi paraître un bulletin hebdomadaire, *Internal Newsletter*, en anglais et en souahéli, qu'ils distribuent au personnel et au Conseil de direction.

Nous avons mis à jour et fait paraître en 1985 deux brochures pour faire connaître l'œuvre de formation et de recherche de l'ILRAD; elles sont destinées à une vaste diffusion. Nous avons aussi publié un volume d'Actes: *Immunization against theileriosis in Africa*, qui rassemble les communications et débats de la réunion conjointe patronnée par l'ILRAD et la FAO en octobre 1984. Nous avons aussi publié, à l'intention des participants au colloque de mai 1985 sur les antigènes des parasites, le compte-rendu de ce colloque.

Les quatre numéros trimestriels de 1985 d'*ILRAD Actualités* comprennent des articles de fond sur: la structure et la fonction du système immunitaire des bovins; les études en collaboration sur le bétail trypanotolérant; les recherches internationales sur les antigènes des parasites, recherches destinées à faire trouver de meilleurs vaccins et de meilleures épreuves de diagnostic; les études détaillées de l'ILRAD sur les dispositifs, tant immunitaires que non immunitaires, de résistance à la trypanosomiase. Des articles plus courts concernaient le colloque tenu en septembre 1985 sur l'immunisation contre la FCO, ainsi que la création de l'ILRAD et sa situation administrative dans le cadre du GCRAI.

Les membres du personnel scientifique de l'ILRAD ont publié 32 articles, en 1985, dans des revues internationales, ainsi que 16 chapitres ou rapports scientifiques. Ces publications érudites, sans compter de nombreuses communications à des conférences internationales, constituent le gros de ce que l'ILRAD publie pour les spécialistes. Nous continuons à faire de gros efforts pour assurer la distribution de nos publications aux chercheurs de pays en développement qui n'ont peut-être pas accès à une large gamme de revues internationales.

Le Rapport annuel et les bulletins trimestriels s'adressent à des lecteurs moins spécialisés, et surtout aux agents de la santé animale en Afrique, tant au laboratoire que sur le terrain. En outre, nous faisons parvenir *ILRAD Actualités*, et à l'occasion de brefs communiqués, aux journalistes de beaucoup de pays du monde. Au second semestre 1985, nous avons fait un gros

effort pour reviser et mettre à jour la liste des destinataires de ces publications (figure 28). Notre but n'est pas simplement de toucher plus de monde: il est de rendre plus précise et plus adaptée la diffusion de nos informations. Nous ne sommes pas sans prendre en considération ce que coûtent la production et la diffusion des publications de l'ILRAD, au regard de leur utilité.

## LA BIBLIOTHEQUE DE L'ILRAD

Les bénéficiaires de la bibliothèque de l'ILRAD sont: le personnel du Laboratoire, les chercheurs qui y séjournent, les stagiaires, ainsi que le personnel d'autres instituts de recherche, ministères et universités du Kénya. Notre brochure: *The ILRAD library: users' guide*, énumère les services qu'offre la bibliothèque.

C'est une bibliothèque spécialisée dans les sujets apparentés aux recherches de l'ILRAD. Elle est abonnée à 210 revues scientifiques, qui traitent de parasitologie, d'immunologie, de biochimie, d'entomologie, de cytologie, de médecine vétérinaire, et incluant également plusieurs index et fascicules de résumés de publications. Nous revisons chaque année notre liste d'abonnements selon les recommandations de notre personnel scientifique. Notre collection d'ouvrages de référence dans ces domaines augmente régulièrement: nous avons acquis 401 nouveaux livres en 1985, ce qui porte le total à un peu plus de 3.000.

Un réseau de prêts mutuels entre bibliothèques associe la nôtre à celles de l'Université de Naïrobi, du Laboratoire kényen de recherche vétérinaire, du Service des recherches vétérinaires de l'Institut kényen de recherche agricole, du Ministère de la santé, et de l'ICIPE. En 1985 le personnel de l'ILRAD leur a emprunté 400 articles, et la bibliothèque de l'ILRAD leur a prêté, à ces bibliothèques, 215 articles. En outre, notre bibliothèque a fait don de plus de 200 livres et 15 volumes de revues à d'autres bibliothèques de la région de Naïrobi.

Pour tenir le personnel au courant, la bibliothèque fait connaître ses dernières acquisitions par des notes hebdomadaires dans l'*Internal Newsletter*, et elle est abonnée à trois mensuels de diffusion sélective: BIOSIS (Biosciences Information Services), AGRIS (Réseau international d'informations sur les sciences et techniques agricoles) de la FAO, et les résumés des CAB (Commonwealth Agricultural Bureaux). De plus elle procède, grâce à ses correspondants en Europe et en Amérique du nord, à des recherches sur ordinateur pour le compte du personnel de l'ILRAD.

Quand les articles scientifiques demandés par le personnel de l'ILRAD ne se trouvent pas au Kénya, la bibliothèque les commande. Elle a ainsi acquis en 1985, principalement du Service de prêt de la British Library, 400 articles environ. Elle fournit aux chercheurs et agents d'exécution des pays en développement, sur leur demande, des tirages à part d'articles scientifiques publiés par les chercheurs de l'ILRAD.

| Région | Pays | | Institutions ou personnalités | |
|---|---|---|---|---|
| | 1984 | 1985 | 1984 | 1985 |
| Afrique anglophone | 26 | 24 | 749 | 851 |
| Afrique francophone | 24 | 24 | 334 | 378 |
| Europe (anglophone et divers) | 17 | 20 | 270 | 286 |
| Europe francophone | 2 | 2 | 39 | 42 |
| Amériques | 27 | 27 | 304 | 317 |
| Levant, Extrême-Orient | 34 | 34 | 334 | 248 |
| Total | 130 | 131 | 2030 | 2122 |

Figure 28 Répartition d'*ILRAD Actualités* à la fin de 1984 et à la fin de 1985

# SERVICES AUXILIAIRES

## LABORATOIRE GLOSSINE

Pour beaucoup des recherches relatives à la trypanosomiase, l'ILRAD a besoin de trypanosomes qui se sont développés dans des glossines. On peut assurément élever des trypanosomes *in vitro*, et en infecter au moyen de piqûres des animaux de laboratoire ou des bestiaux; mais les trypanosomes vivent normalement dans des glossines plusieurs étapes de leur cycle vital; quand on les élève et transmet artificiellement, ils diffèrent à certains égards de ceux que transmet la morsure d'une glossine infectée.

Les trois principaux groupes taxinomiques de glossines (*morsitans*, *palpalis* et *fusca*) sont représentés à l'ILRAD, en sept colonies de reproduction: *Glossina morsitans centralis*, de Tanzanie continentale; *G austeni*, de Zanzibar; *G palpalis palpalis*, du Nigéria; *G p gambiensis*, du Burkina-Faso; *G fuscipes fuscipes*, de République centrafricaine; *G tachinoides*, du Tchad; *G brevipalpis*, du Kénya. La figure 29 indique comment l'ensemble de ces colonies de reproduction s'est comporté en 1985.

L'ILRAD emploie les glossines (mouches tsé-tsé) dans toute une série de recherches sur la trypanosomiase. Il a aussi, en 1985, fourni des pupes et insectes parfaits à des chercheurs de l'Université de Naïrobi, de l'Institut kényen de recherche agricole, du Conseil national de la recherche scientifique et d'une opération de la FAO en Zambie, des Universités de Bristol et de Salford (Royaume-Uni), de l'Institut belge de médecine tropicale et de l'Institut tropical suisse.

## LABORATOIRE TIQUE

On ne peut obtenir les sporozoïtes infectieux de *Theileria parva* qu'en faisant continuellement passer les parasites des tiques vectrices aux hôtes mammifères, et des hôtes aux tiques. Notre laboratoire tique élève, sur des lapins et sur des bovins, des tiques infectées et des tiques indemnes. Il fournit des tiques, des organes de tique et des sporozoïtes de *Theileria* (obtenus grâce aux tiques) pour toute une série de recherches sur la FCO. Nous avons élevé, en 1985, environ huit millions et demi de tiques, ce qui nous a permis d'en fournir constamment aux recherches sur les tiques et sur les maladies transmises par les tiques. Nous avons fourni aux chercheurs de l'ILRAD des tiques entières; mais nous en avons aussi disséqué 111.000 environ pour en extraire des theilérias.

La principale espèce de tique que l'ILRAD élève est *Rhipicephalus appendiculatus*, principal vecteur de *T p parva* et *T p lawrencei*. Nous avons des colonies de plusieurs lignées de laboratoire de *R appendiculatus*, ainsi que des isolats prélevés sur le terrain en différents endroits d'Afrique

| | Femelles reproductrices | Mortalité des femelles (% moyen) | Pupes par femelle par semaine (moyenne) | Poids pupal moyen (mg) | Nombre de pupes par an |
|---|---|---|---|---|---|
| *G m centralis* | 9566 | 0,44 | 0,54 | 33,68 | 269.584 |
| *G austeni* | 2240 | 0,15 | 0,43 | 25,81 | 50.374 |
| *G p palpalis* | 1991 | 0,54 | 0,41 | 30,01 | 41.934 |
| *G p gambiensis* | 2473 | 0,46 | 0,47 | 28,93 | 60.739 |
| *G f fuscipes* | 1787 | 0,31 | 0,45 | 34,58 | 41.492 |
| *G tachinoides* | 1857 | 0,76 | 0,49 | 19,29 | 47.009 |
| *G brevipalpis* | 5238 | 1,06 | 0,46 | 73,06 | 127.456 |

Figure 29. Rendement des sept colonies de reproduction de glossines dont l'ILRAD disposait en 1985.

orientale. Nous avons aussi de petites colonies de plusieurs autres espèces de tique: *Amblyomma variegatum* et *A gemma*, vecteurs de *Cowdria ruminantium* (agent de la cowdriose) et de deux espèces assez bénignes de *Theileria*, *T mutans* et *T velifera*; *Boophilus decoloratus* et *B microplus*, vecteurs de *Babesia* spp et d'*Anaplasma marginale*; *Rhipicephalus evertsi evertsi* et *R pulchellus*.

Nous étudions constamment les facteurs qui influent sur la vie des tiques et sur leur croissance; l'apparition de résistance aux tiques chez l'hôte; les toxines des tiques qui paralysent ou tuent leur hôte; l'effet résiduel, sur les tiques, du traitement de l'hôte par les acaricides; l'effet toxique, sur les tiques encore, d'aliments de l'hôte; effets de la saison et du climat sur les tiques, ainsi que des maladies bactériennes ou cryptogamiques. Nous étudions aussi les facteurs qui influent sur le développement des theilérias chez les tiques: caractéristiques de telle ou telle lignée de theiléria ou de tique; caractéristiques individuelles ou raciales des bovins hôtes; moment de la fixation de la tique; influence de la saison et du milieu pendant l'alimentation de la tique et son incubation. Le but de nos recherches est de trouver le meilleur régime et le meilleur milieu pour produire des tiques grandes et vigoureuses, et en même temps infectées par le plus grand nombre possible de sporozoïtes de *Theileria*.

Nous avons, en 1985, fait des expériences pour savoir si l'on pourrait augmenter beaucoup le taux d'infection par *Theileria* chez des tiques nourries sur des bovins dont on aurait aboli les réactions immunitaires, soit en les traitant aux glucocorticoïdes, soit en les dératant. Nous avons réalisé de très forts taux d'infection; mais le résultat dépendait beaucoup des réactions individuelles de l'hôte et de la lignée de *Theileria* dont nous nous étions servis.

D'autres études de ce laboratoire consistent à chercher des techniques de coloration pour identifier les différentes espèces de *Theileria* dans les glandes salivaires des tiques infectées. Nous cherchons aussi des techniques pour évaluer le degré de maturité des theilérias trouvées dans la glande salivaire d'une tique.

Le laboratoire tique identifie les tiques que des agents d'exécution lui envoient du Kénya ou d'autres pays d'Afrique, et fournit, à toute une série d'opérations de recherche en collaboration, des tiques ou des theilérias prélevées sur des tiques. Il a ainsi aidé, en 1985, les laboratoires vétérinaires nationaux du Kénya, du Rwanda et du Zaïre, deux opérations de progrès de l'élevage au Kénya, l'Opération nationale de lutte contre les glossines et la trypanosomiase en Somalie, la Station de recherches de Sérengéti en Tanzanie, l'Université Kényatta au Kénya, l'Université d'Oklahoma aux États-Unis. Pendant l'année, des

agents d'exécution ou de laboratoire sont venus du Burundi, de l'Ethiopie, de la Gambie, du Mozambique et du Zaïre suivre à l'ILRAD des stages de formation où ils ont appris à manipuler les tiques et à les identifier, ainsi qu'à diagnostiquer et traiter les maladies transmises par des tiques.

## PRODUCTION DE BÉTAIL

La production et la gestion du bétail sont redevenues normales en 1985, après la grave sécheresse de 1984, tant à la station de l'ILRAD à Kabété qu'à sa station des plaines de Kapiti. Nous avons pu fournir pour les expériences, pendant l'année, 427 bovins, 564 caprins et 13 ovins. Parmi les bovins 60% ont servi aux recherches sur la FCO et 35% aux recherches sur la trypanosomiase; 5% ont servi à produire des antigènes pour le laboratoire diagnostique. Les petits ruminants ont presque tous servi aux recherches sur la trypanosomiase.

La station de Kapiti a continué à fournir presque tous les bovins dont l'ILRAD avait besoin pour ses recherches. Le troupeau de reproduction comptait 1.252 vaches ou génisses; elles ont produit pendant l'année 1.029 veaux, soit un taux de vêlage de 82%. La station a procuré à l'ILRAD 331 veaux boran, 38 veaux guernesiais et 35 bœufs boran; elle a vendu à l'extérieur 328 bovins. En dehors des quelques moutons et chèvres nés à Kabété, l'ILRAD achète à des éleveurs locaux tous les petits ruminants dont il se sert pour ses expériences.

Notons, parmi les progrès réalisés en 1985 à la station de Kapiti, la construction de clôtures, d'abreuvoirs, et d'une fosse à purin. Grâce à l'addition de près de 50 km de clôtures, nous pouvons mieux régler la pâture et les mouvements du bétail. Parmi un cheptel d'environ 2.500 bêtes, nous choisissons actuellement un troupeau de base de vaches boran immatriculées, notre sélection se faisant d'après la conformation du sujet et son poids à deux ans; nous choisirons parmi leurs veaux les taureaux géniteurs du futur programme de reproduction.

Nous avions commencé en 1984 à pratiquer à Kapiti des transferts d'embryons pour produire des veaux boran d'ALB bien définis, avec des vaches et des taureaux dotés des ALB en question. Les premiers veaux boran ainsi produits par transfert d'embryon sont nés en 1985. Notre but est de produire ainsi chaque année 50 à 60 veaux, en comptant les veaux uniques, les jumeaux et les chimères jumelles.

De brefs accès de salmonellose et de pleuropneumonie caprine contagieuse se sont produits à Kabété pendant l'année, mais nous les avons vite maîtrisés. Un accès de fièvre aphteuse survenu près de la station de Kapiti a interrompu pendant peu de temps la fourniture de veaux à l'ILRAD.

## ANIMAUX DE LABORATOIRE

Notre section d'animaux de laboratoire fournit régulièrement des rats, des souris et des lapins à l'ILRAD pour ses expériences; elle a aussi de petites colonies de campagnols (*Microtus montanus*), de cobayes et de gerbilles. Le logement et l'entretien de tous ces rongeurs sont conformes aux conventions internationales sur la protection des animaux.

La figure 30 indique le nombre des rats, souris et lapins produits et employés en 1985. La demande de souris a augmenté de 50% sur 1984, celle de rats a diminué de 25%, celle de lapins est restée la même.

Les rats exogamiques élevés à l'ILRAD sont de la lignée Sprague-Dawley. Ils servent surtout à produire des trypanosomes. Nous avons en outre importé en 1985, pour des expériences spéciales, des lots de deux lignées endogamiques de rats.

Nous nous servons des souris surtout pour étudier la résistance à la trypanosomiase, les différentes lignées de souris n'ayant pas la même sensibilité à l'infection par les trypanosomes. Nous nous servons de souris suisses exogamiques pour beaucoup d'expériences, mais il nous faut des colonies de trois lignées endogamiques: BALB/c, C3H/He et C57Bl/6, pour certaines études. Nous

| Espèce, lignée | Bêtes sevrées | Bêtes fournies aux chercheurs |
|---|---|---|
| Rats | 20.400 | 13.075 |
| Souris | | |
| Suisses exogamiques | 25.573 | 16.538 |
| Endogamiques BALB/c | 17.090 | 16.709 |
| Endogamiques C3H/He | 6.589 | 5.430 |
| Endogamiques C57Bl/6 | 5.419 | 4.107 |
| Diverses (achats) | | 5.125 |
| Lapins | 420 | 1.288 |

Figure 30. Rats, souris et lapins produits en 1985 et fournis aux chercheurs de l'ILRAD.

avons eu aussi en 1985 de petites colonies de C3H/HeJ, AJ et DBA/2, et nous avons obtenu des hybrides $F_1$ et $F_1$ inverse de deux croisements: BALB/c x Suisse et C3H/He x C57Bl/6. Nous avons importé pour des expériences spéciales des lots de C57Bl/6 beige et de NZB, et aussi des lots de deux lignées de souris nudes athymiques: D3H/Tif nude et C57Bl/6 nude.

Nous mettons en place un système d'isolement pour les animaux de laboratoire; trois unités isolantes fonctionnent déjà. Nous pouvons maintenant garder isolés les animaux importés, sans guère de risque pour nos principales colonies de reproduction. Nous avons importé en 1985 des lots, exempts de virus, des lignées endogamiques de base de l'ILRAD; nous les gardons dans des unités isolantes, en milieu stérile.

L'ILRAD se sert des lapins principalement pour produire des antisérums et pour alimenter les colonies de glossines et de tiques. La colonie de reproduction des lapins a lentement augmenté pendant l'année; mais nous avons encore besoin d'acheter des lapins à l'extérieur pour satisfaire la demande des chercheurs. Il y a dans la colonie de lapins des pertes avant sevrage; elles sont peut-être dues à une mauvaise ventilation naturelle. Nous avons installé dans les salles de reproduction des ventilateurs plus puissants, et gardons dehors à l'abri, quelques lapins.

Cette section ne se limite pas à fournir à l'ILRAD presque tous les animaux de laboratoire dont il a besoin; elle fournit des souris, des rats et d'autres rongeurs à plusieurs organisations du Kénya. Il s'agissait en 1985: de l'ICIPE, de l'Institut kényen de recherches sur la trypanosomiase, de l'Institut kényen de recherche médicale, de l'Institut de recherches sur les primates, du Département de biochimie de l'Université de Naïrobi, des musées nationaux du Kénya, de la Société protectrice des animaux du Kénya, et de plusieurs écoles secondaires du Kénya.

## SERVICES CLINIQUES ET DIAGNOSTIQUES

Le laboratoire diagnostique procède à plusieurs sortes d'analyses régulières dont ont besoin les chercheurs de l'ILRAD ou les sections de production animale. Il a analysé en 1985 un total de 37.804 spécimens: 26.341 étaient sérologiques, 4.728 bactériologiques, 3.108 hématologiques, 3.627 helminthologiques; soit, pour l'ensemble, 26% de plus qu'en 1984.

La presque seule raison de cette augmentation est qu'il a fallu davantage d'analyses sérologiques pour les essais d'immunisation sur le terrain contre la ECO, essais auxquels l'ILRAD procède en collaboration. Le

laboratoire diagnostique analyse les isolats de *Theileria* recueillis sur le terrain et contrôle si les bêtes ont déjà risqué la FCO ou d'autres maladies, avant qu'on ne les immunise par infection plus traitement. Une fois les bêtes immunisées, on les contrôle tous les mois, pendant un an, pour voir si elles font une réaction immunitaire à des theilérias.

On crible les bestiaux et les animaux de laboratoire pour voir s'ils font des anticorps contre six hématozoaires: *Theileria parva*, *T mutans*, *Trypanosoma brucei*, *T congolense*, *T vivax*, *Anaplasma marginale*. La plupart des criblages ordinaires pour les theilérias ou les trypanosomes se font par immunofluorescence indirecte. On emploie aussi la méthode ELISA pour contrôler, dans le sérum des bovins, la présence d'anticorps contre les trypanosomes.

Nous avions mis au point en 1984 une nouvelle méthode pour purifier les anticorps contre *Anaplasma marginale*. Nous continuons à travailler, en collaboration avec l'Université de l'Etat de Washington (Etats-Unis), à produire des antigènes (ou un antigène) bien définis pour diagnostiquer cet hématozoaire.

Une importante réalisation de 1985 a été d'adapter la technique ELISA au criblage des anticorps contre *Babesia bigemina*. Nous avons produit contre ce parasite des anticorps dont nous nous servirons pour purifier les antigènes à employer pour le diagnostic.

Outre ses services aux chercheurs de l'ILRAD, le laboratoire diagnostique a fourni des antigènes, des conjugats et des sérums de contrôle au Service des recherches vétérinaires de l'Institut kényen de recherche agricole, à l'Université d'Ibadan (Nigéria), à des opérations de la FAO au Burundi, en Zambie et au Zimbabwé, et à une opération de l'ODA britannique en Tanzanie.

Le laboratoire diagnostique a organisé en 1985 un stage de formation de trois mois sur la préparation de réactifs à employer pour le sérodiagnostic des hématozoaires parasites des bovins. Il y a eu six stagiaires, spécialistes venus du Burundi, du Kénya, du Sénégal et de la Zambie. De plus, huit techniciens de laboratoire ou vétérinaires praticiens ont reçu, en 1985, une formation individuelle au laboratoire diagnostique de l'ILRAD.

# PUBLICATIONS DE 1985

Akol, G.W.O. et Murray, Max (1985). Induction of protective immunity in cattle by tsetse-transmitted cloned isolates of *Trypanosoma congolense*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 79: 617-27 (266).

Black, S.J., Sendashonga, C.N., O'Brien, C., Borowy, N.K., Naessens, J., Webster, P. et Murray, Max (1985). Regulation of parasitaemia in mice infected with *Trypanosoma brucei*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 117: 93-118 (263).

Borowy, N.K., Fink, E. et Hirumi, H. (1985). *In vitro* activity of the trypanocidal diamidine DAPI on animal-infective *Trypanosoma brucei brucei*. *Acta Tropica*, 42: 287-98 (321).

Borowy, N.K., Fink, E. et Hirumi, H. (1985). *Trypanosoma brucei*: five commonly used trypanocides assayed *in vitro* with a mammalian feeder layer system for cultivation of bloodstream forms. *Experimental Parasitology*, 60: 323-30 (324).

Borowy, N.K., Hirumi, H., Waithaka, H.K. et Mkoji, G. (1985). An assay for screening drugs against animal-infective bloodstream forms of *Trypanosoma brucei brucei in vitro*. *Drugs and Experimental Clinical Research*, 11:155-61 (312).

Brown, W.C. et Grab, D.C. (1985). Biological and biochemical characterization of bovine interleukin-2. Studies with cloned bovine T cells. *Journal of Immunology*, 135: 3184-90 (322).

Chumo, R.S.C., Taracha, E., Morzaria, S.P., Irvin, A.D., Voigt, W.P. et Purnell, R.E. (1985). East Coast fever field trial at Ngong, Kenya: isolation of *Theileria parva* stocks and immunization. Publié sous la direction de A.D. Irvin. *Immunization against Theileriosis in Africa*. Nairobi: ILRAD, pp. 79-81 (390).

Chuley, J.D., Fawcett, D.W. et Chunge, C.N. (1985). Electron microscopy of *Leishmania donovani* in splenic aspirates from patients with visceral leishmaniasis during treatment with sodium stibogluconate. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 79: 417-29 (264).

Dobbelaere, D.A.E. et Spooner, P.R (1985). Production in ascites fluid of biosynthetically labelled monoclonal antibody to *Theileria parva* sporozoites. *Journal of Immunological Methods*, 82: 209-14 (268).

Dobbelaere, D.A.E., Shapiro, S.Z. et Webster, P. (1985). Identification of a surface antigen on *Theileria parva* sporozoites by monoclonal antibody. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 82: 1771-75 (309).

Dobbelaere, D.A.E., Webster, P., Leitch, B.L., Voigt, W.P. et Irvin, A.D. (1985). *Theileria parva*: expression of a sporozoite surface coat antigen. *Experimental Parasitology*. 60: 90-100 (315).

Doyle, J.J., Grandin, B.E. et Paling, R.W. (1985). Women and agricultural technology: understanding the needs of both the direct users and the ultimate beneficiaries of ILRAD's research. Dans *The Users' Perspective in International and National Agricultural Research*. La Haye: Service international de la recherche agricole nationale, pp. 111-20 (345).

Fawcett, D.W., Young, A.S. et Leitch, B.L. (1985). Sporogony in *Theileria* (Apicomplexa: Piroplasmida). A comparative ultrastructural study. *Journal of Submicroscopic Cytology*. 17: 299-314 (235).

Hirumi, H. (1983). Battle against African sleeping sickness [en japonais]. *Newton*. 9: 36-43 (388).

Irvin, A.D. (1985). Immunity in theileriosis. *Parasitology Today*. 1: 124-28 (409).

Irvin, A.D. (1985). Immunization against *Theileria parva*. Dans *Ticks and tick-borne disease control: a practical field manual*. Vol. 2. Rome: FAO, pp. 457-507 (402).

Irvin, A.D., directeur de la publication. (1985). *Immunization against theileriosis in Africa: proceedings of a joint workshop*. Nairobi: ILRAD, 167 pp. (376).

Irvin, A.D., Minami, T., Spooner, P.R., Fujinaga, T., Fujisaki, K., Morzaria, S.P. et Conrad, P.A. (1985). Characterization of strains of *Theileria parva*. Publié sous la direction de A.D. Irvin. *Immunization against Theileriosis in Africa*. Nairobi: ILRAD, pp. 114-17 (393).

Lenahan, J.K. (1985). Training needs in an East Coast fever immunization program. Publié sous la direction de A.D. Irvin. *Immunization against Theileriosis in Africa*. Nairobi: ILRAD, p. 140 (395).

Lonsdale-Eccles, J.D. (1985). Sulphydryl-dependent enzymes from African trypanosomes. Publié sous la direction de E.A. Khairallah, J.S. Bond et J.W.C. Bird. *Intracellular Protein Catabolism*. New York: Alan Liss, pp. 229-31 (375).

Majiwa, P.A.O., Matthyssens, G., Masake, R., Nantulya, V.M. et Hamers, R. (1985). *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*: identification of two distinct karyotypic groups. *EMBO Journal*. 4: 3307-13 (354).

Majiwa, P.A.O., Matthyssens, G., Williams, R.O. et Hamers, R. (1985). Cloning and analysis of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* ILNat 2.1 VSG gene. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 16: 97-108 (387).

Moloo, S.K. (1985). Distribution of *Glossina* species in Africa. *Acta Tropica*. 42: 275-81 (359).

Moloo, S.K. et Dar, F. (1985). Probing by *Glossina morsitans centralis* infected with pathogenic *Trypanosoma* species. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 79: 119 (279).

Moloo, S.K. et Kutuza, S.B. (1985). Survival and reproductive performance of female *Glossina morsitans morsitans* when maintained on livestock infected with salivarian trypanosomes. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 79: 223-24 (316).

Morrison, W.I. et Murray, Max (1985). The role of humoral immune responses in determining susceptibility of A/J and C57BL/6 mice to infection with *Trypanosoma congolense*. *Parasite Immunology*. 7: 63-79 (267).

Morrison, W.I. et Musoke, A.J. (1985). Alternative approaches to immunization against East Coast fever. Publié sous la direction de A.D. Irvin. *Immunization against Theileriosis in Africa*. Nairobi: ILRAD, pp. 97-99 (391).

Morrison, W.I., Murray, Max et Akol, G.W.O. (1985). The immune responses of cattle to trypanosomes. Publié sous la direction de I.R. Tizard. *Immunology and pathogenesis of trypanosomiasis*. Boca Ratan (Etats-Unis): CRC Press, pp. 103-31 (241).

Morzaria, S.P. et Irvin, A.D. (1985). The epidemiology of tick-borne diseases. serological diagnostic tests. Dans *Ticks and tick-borne disease control: a practical field manual*. Vol. 2. Rome: FAO, pp. 333-72 (401).

Morzaria, S.P., Irvin, A.D., Taracha, E. et Spooner, P.R. (1985). East Coast fever immunization trials in the Coast Province of Kenya. Publié sous la direction de A.D. Irvin. *Immunization against Theileriosis in Africa*. Nairobi: ILRAD, pp. 76-78 (389).

Murray, Max et Black, S.J. (1985). African trypanosomiasis in cattle: working with nature's solution. *Veterinary Parasitology*. 18: 167-82 (306).

Murray, Max, Hirumi, H. et Moloo, S.K. (1985). Suppression of *Trypanosoma congolense*, *T vivax* and *T brucei* infection rates in tsetse flies maintained on goats immunized with uncoated forms of trypanosomes grown *in vitro*. *Parasitology*. 91: 53-66 (317).

Murray, Max, Trail, J.C.M., D'Ieteren, G., Paling, R.W., Leak, S.G.A., Maehl, J.H.H. et Moloo, S.K. (1985). The trypanotolerance network: a model for an East Coast fever network. Publié sous la direction de A.D. Irvin. *Immunization against Theileriosis in Africa*. Nairobi: ILRAD, pp. 129-32 (394).

Naessens, J., Newson, J., Bensaid, A., Teale, A.J., Magondu, J. et Black, S.J. (1985). *De novo* expression of T-cell markers on *Theileria parva*-transformed lymphoblasts in cattle. *Journal of Immunology*. 135: 4183-88 (325).

Nantulya, V.M. (1985). Biotechnology at ILRAD. In *Biotechnology in International Agricultural Research*. Manila: Institut international de recherche sur le riz, pp. 297-304 (352).

Nwagwu, M., Grab, D.J., ole-MoiYoi, O., Hirumi, H. et Watanabe, M. (1985). Phosphofunctokinases of *T brucei*: purification and properties. *Biochemical Society Transactions*. 13: 890-91 (441).

Parish, N.M., Morrison, W.I. et Pearson, T.W. (1985). Identification of an antigen specific to *Trypanosoma congolense* by using monoclonal antibodies. *Journal of Immunology*. 134: 593-97 (400).

Teale, A.J., Morrison, W.I., Goddeeris, B.M., Groocock, C.M., Stagg, D.A. et Spooner, R.L. (1985). Bovine alloreactive cytotoxic cells generated *in vitro*: target specificity in relation to BoLA phenotype. *Immunology*. 55: 355-62 (311).

Trail, J.C.M., Murray, Max, Sones, K., Jibbo, J.M.C., Durkin, J. et Light, D.E. (1985). Boran cattle maintained by chemoprophylaxis under trypanosomiasis risk. *Journal of Agricultural Sciences*. 105: 147-66 (405).

Trail, J.C.M., Sones, K., Jibbo, J.M.C., Durkin, J., Light, D.E. et Murray, Max (1985). *Productivity of Boran Cattle Maintained by Chemoprophylaxis under Trypanosomiasis Risk*. Addis Abéba: CIPEA, 76 pp. (346).

Webster, P., Dobbelaere, D.A.E. et Fawcett, D.W. (1985). The entry of sporozoites of *Theileria parva* into bovine lymphocytes *in vitro*: immunoelectron microscopic observations. *European Journal of Cell Biology*. 36: 157-62 (318).

Westley, S.B. et Howe, V., directeurs de la publication. (1985). *Parasite Antigens: Summary Proceedings of an International Workshop*. Naïrobi: ILRAD, 52 pp. (404).

Westley, S.B. (1985). The fight against East Coast fever. *Kenya Farmer*. 50: 63-65 (403).

Whitelaw, D.D. et Jordt, T. (1985). Colostral transfer of antibodies to *Trypanosoma brucei* in goats. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*. 65: 119-205 (327).

Whitelaw, D.D., Kaaya, G.P., Moulton, J.E., Moloo, S.K. et Murray, Max (1985). Susceptibility of different breeds of goats in Kenya to experimental infection with *Trypanosoma congolense*. *Tropical Animal Health and Production*. 17: 155-65 (310).

Whitelaw, D.D., Moulton, J.E., Morrison, W.I. et Murray, Max (1985). Central nervous system involvement in goats undergoing primary infections with *Trypanosoma brucei* and relapse infections after chemotherapy. *Parasitology*. 90: 255-68 (307).

Whitelaw, D.D. et Urquhart, G.M. (1985). Maternally derived immunity in young mice to infection with *Trypanosoma brucei* and its potentiation by Berenil chemotherapy. *Parasite Immunology*. 7: 289-300 (347).

Young, A.S. et Grootenhuis, J.G. (1985). Influence of wildlife on immunization of cattle against theileriosis in East Africa. Publié sous la direction de A.D. Irvin. *Immunization against Theileriosis in Africa*. Naïrobi: ILRAD, pp. 104-9 (392).

# CONSEIL DES DIRECTEURS

Dr P. Atang
Chef des opérations régionales
Division des opérations agricoles
Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO)
Rome (Italie)

Dr L.L. Callow
Directeur du service de pathologie
de l'Animal Research Institute
Brisbane (Australie)

Dr D.M. Chavunduka
Highlands Veterinary Surgery
Highlands (Zimbabwé)

Prof Dr K. Eichmann
Directeur du Max-Planck Institut für Immunbiologie
Fribourg (Allemagne fédérale)

Dr A.R. Gray
Directeur général de l'ILRAD
Naïrobi (Kénya)

Dr G.L. Kazyumba
Chef de Travaux
Laboratoire de Parasitologie
Université de Kinshasa
Kinshasa (Zaïre)

Mr J.S. Mburu
Directeur de la National Agricultural Chemicals and Fertilizers Ltd
Naïrobi (Kénya)

Dr W.K. Ngulo
Directeur adjoint
Ministry of Livestock Development
Naïrobi (Kénya)

Prof E.N.W. Oppong
Chargé de l'élevage et de la santé animale
Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO)
Jos (Nigéria)

Prof W.R. Pritchard (Président)
School of Veterinary Medicine
University of California at Davis
Davis, Californie (Etats-Unis)

Dr K.S. Warren
Director for Health Sciences
The Rockefeller Foundation
New-York (Etats-Unis)

Dr K.F. Wells
Consultant en agriculture
Ottawa (Canada)

# PERSONNEL

(en poste pendant tout ou une partie de 1985)

## ADMINISTRATION

A.R. Gray
Directeur général
P.R. Rowe
Directeur d'Administration
J.J. Doyle
Directeur de Recherches
D.M. Sickelmore
Contrôleur financier
J. Ouya
Chef comptable
P.K. Churie
Directeur du Service du Personnel
M.N. Kanyi
Chef administratif
M.A. Craig
Econome
M.W. Holt
Ingénieur en Chef
M.A. Lobo
Ingénieur électronicien
S. Kasera
Responsable des Achats
G. Mzera
Responsable des Magazins
A. Mathenge
Chef de la Sécurité
L. Hartley
Responsable des Transports

## PARASITOLOGIE DE LA TRYPANOSOMIASE

V.M. Nantulya
Chercheur
P.R. Gardiner
Chercheur
G. Knowles
Chercheur
T. Asonganyi
Chercheur Visiteur
R.K.G. Assoku
Chercheur Visiteur
M. Clarke
Chercheur Visiteur
S. Ferenc
Chercheur Visiteur
T.W. Pearson
Chercheur Visiteur
D. Whitelaw
Chercheur Visiteur
R.A. Masake
Chercheur Post-Doctoral
K. Nguli
Chercheur Associé
A. Adema
Technicien de Laboratoire
H. Gathuo
Technicien de Laboratoire
N. Saigar
Technicien de Laboratoire

V. Nyambati
Technicien de Laboratoire
R. Thatthi
Technicien de Laboratoire

## BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE

O. ole MoiYoi
Directeur de Projet
D.J. Grab
Chercheur
J. Lonsdale-Eccles
Chercheur
J.R. Young
Chercheur
J. Dame
Chercheur Visiteur
L. de Almeida
Chercheur Visiteur
J. Ward
Chercheur Visiteur
G. Matthyssens
Chercheur Visiteur
T. Tsukamoto
Chercheur Visiteur
K. Iams
Chercheur Post-Doctoral
B. Kukla
Chercheur Post-Doctoral
B. Kimmel
Chercheur Associé
P. Majiwa
Chercheur Associé
J. Mpimbaza
Chercheur Associé
A. Nayar
Technicien de Laboratoire
J. Verjee
Technicien de Laboratoire

## BIOLOGIE CELLULAIRE

H. Hirumi
Directeur de Projet
W.R. Fish
Chercheur
R. Brun
Chercheur Visiteur

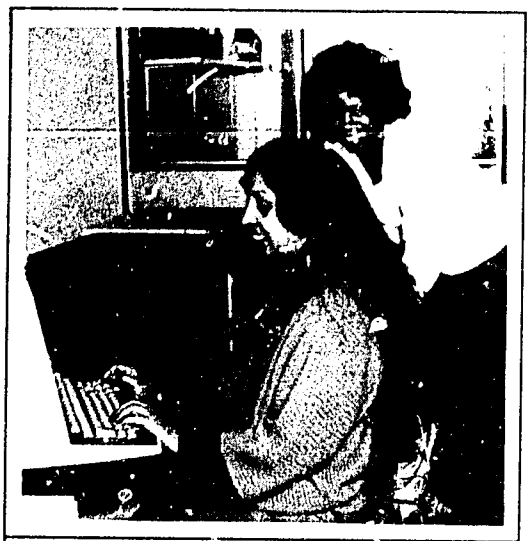
B. Honigberg
Chercheur Visiteur
R.W. Hampton
Boursier de Recherche Visiteur
N.K. Borowy
Chercheur Post-Doctoral
K. Hirumi
Chercheur Associé
R.T. Nelson
Chercheur Associé
E. Omolo
Technicien de Laboratoire

IMMUNOBIOLOGIE

S.J. Black
Directeur de Projet
W.C. Barry
Chercheur
S.Z. Shapiro
Chercheur
A. Bensaid
Chercheur Visiteur
L. Greenbaum
Chercheur Visiteur
L. Hendershot
Chercheur Visiteur
S. Mahan
Chercheur Post-Doctoral
J. Naessens
Chercheur Post-Doctoral
C. Sendashonga
Chercheur Post-Doctoral
K.S. Logan
Chercheur Associé
J. Magondu
Chercheur Associé
J. Newson
Chercheur Associé

PARASITOLOGIE DE
LA THEILERIOSE

A.J. Musoke
Directeur de Projet
A.D. Irvin
Directeur de Projet
S.P. Morzaria
Chercheur



D. Dobbelaere
Chercheur Visiteur
K. Fujisaki
Chercheur Visiteur
T. Fukuma
Chercheur Visiteur
K. Kocan
Chercheur Visiteur
C. Sugimoto
Chercheur Visiteur
P. Conrad
Chercheur Post-Doctoral
R. Hail
Chercheur Post-Doctoral
S.H. Minja
Chercheur Associé
C.G. Nkonge
Chercheur Associé
P.R. Spooner
Chercheur Associé
L.N. Mburu
Technicien de Laboratoire

PATHOLOGIE

M. Murray
Directeur de Projet
W.I. Morrison
Directeur de Projet
R.W. Paling
Chercheur
W.C. Davis
Chercheur Visiteur
D. Emery
Chercheur Visiteur
B. Goddeeris
Chercheur Visiteur
C. Llewellyn
Chercheur Visiteur
C. Munro
Chercheur Visiteur
A.J. Teale
Chercheur Visiteur
C. Baldwin
Chercheur Post-Doctoral
J. Ellis
Chercheur Post-Doctoral
G.M. Lamb
Chercheur Associé

D.N. MacHugh
Chercheur Associé
S. Kemp
Chercheur Associé Visiteur

## MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

D.W. Fawcett
Directeur de Projet
S. Ito
Directeur de Projet
C. McCrae
Chercheur Visiteur
J. Venable
Chercheur Visiteur
P. Webster
Chercheur Associé

## LABORATOIRE GLOSSINE

S.K. Moloo
Chercheur
S.B. Kutuza
Chercheur Associé
S.G.A. Leak
Chercheur Associé
I. Bakakimpa
Technicien de Laboratoire

## LABORATOIRE TIQUE

W.P. Voigt
Chercheur
F. Mwakima
Chercheur Associé

## SERVICE DE NOYAU CENTRAL

C.A. Hinson
Responsable de la Sécurité Radiation

## PRODUCTIONS D'ANIMAUX/ SERVICES DIAGNOSTIQUES

T. Jordt
Chercheur
J. Katende
Chercheur Associé

R.C. King
Chercheur Associé
S.J. Kimani
Responsable de Ferme/Kabété
L.J. Howard
Responsable de Ranch/Kapiti

## FORMATION ET INFORMATION

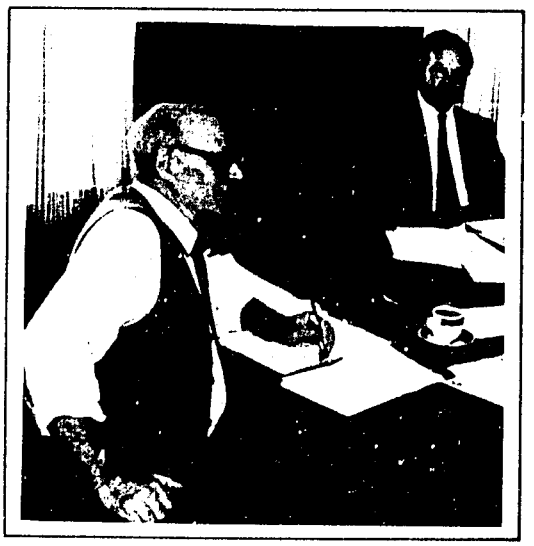
J.K. Lenahan
Responsable de la Formation et l'Information
S.B. Westley
Rédacteur Scientifique
D. Elsworth
Surveillant des Arts Graphiques
W. Umbima
Bibliothécaire
V. Howe
Redacteur Visiteur
J.R. Scott
Chercheur Associé
G. Gettinby
Consultant

## PROJET POUR LES MALADIES DE LA FAUNE

J.G. Grootenhuis
Chercheur

PROJET SUR LA
TRYPANOTOLERANCE
DES N'DAMA

R.H. Dwinger
Chercheur
P. Jeannin
Chercheur
A.S. Grieve
Chercheur Associé



# SITUATION FINANCIERE

Rattansi Educational Trust Building
Koinange Street
P O Box 41968
Nairobi, Kenya

Telephone 21244
Telex: 22140 CHUNGA
Cables: "PRICEWATER"

*Price Waterhouse*

RAPPORT A LA DIRECTION DU LABOR TOIRE INTERNATIONAL POUR LA RECHERCHE SUR LES MALADIES ANIMALES (ILRAD)

Nous pouvons, après avoir examiné en détail les résumés ci-contre (figures 31 à 34), certifier que les chiffres qu'ils donnent sont tirés des livres et documents comptables de l'ILRAD qui ont servi à établir les comptes réglementaires pour les exercices 1985 et 1984.

La ventilation des données n'est pas, dans ces résumés, à tous égards la même que dans les comptes réglementaires, mais les chiffres essentiels correspondent bien à ceux des comptes financiers vérifiés le 31 décembre 1984 et le 31 décembre 1985.

Price Waterhouse

PRICE WATERHOUSE
Comptable breveté

14 mars 1986

Figure 31. Budget sommaire des dépenses (en milliers de dollars) par programme et par fonction.

| | 1985 | 1984 |
|---|---|---|
| Recherche | 432 | 315 |
| Parasitologie (trypanosomiase) | | |
| Biochimie | 656 | 727 |
| Cytologie | 466 | 541 |
| Immunobiologie | 357 | 356 |
| Parasitologie (theilériose) | 516 | 527 |
| Pathologie | 605 | 598 |
| Laboratoire glossine | 297 | 279 |
| Laboratoire tique | 124 | 106 |
| Microscopie électronique | 148 | 150 |
| Total partiel | 3601 | 3599 |
| Services auxiliaires | | |
| Bureau du Directeur de recherches | 416 | 562 |
| Production de bétail | 614 | 632 |
| Production d'animaux de laboratoire | 148 | 133 |
| Services cliniques et diagnostiques | 72 | 86 |
| Service radio-isotopique et central | 341 | 303 |
| Total partiel | 1591 | 1707 |
| Formation et conférences | 752 | 685 |
| Bibliothèque et information | 369 | 313 |
| Administration | | |
| Conseil des directeurs | 83 | 91 |
| Bureau du Directeur général | 394 | 348 |
| Finances | 332 | 342 |
| Personnel | 74 | 85 |
| Achats | 302 | 275 |
| Total partiel | 1185 | 1141 |
| Fonctionnement | | |
| Service technique | 660 | 572 |
| Transports | 214 | 252 |
| Services | 228 | 146 |
| Alimentation, logement | 5 | 14 |
| Magasins | 48 | 52 |
| Total partiel | 1155 | 1036 |
| Examen externe du programme | 125 | — |
| Imprévu | — | 10 |
| Total des dépenses centrales | 8778 | 8491 |

Figure 32. Financement central (sommaire), par donateurs, en milliers de dollars.

| | 1985 | 1984 |
|---|---|---|
| Sans restriction | | |
| USAID (Etats-Unis) | 2490 | 2500 |
| Banque mondiale (BIRD) | 1200 | 1570 |
| CIDA (Canada) | 686 | 699 |
| Royaume-Uni | 546 | 468 |
| Allemagne fédérale | 528 | 556 |
| Suisse | 415 | 437 |
| Australie | 281 | 208 |
| Pays-Bas | 249 | 264 |
| Suède | 237 | 197 |
| Norvège | 234 | 255 |
| Japon | 201 | 150 |
| Italie | 164 | 112 |
| Belgique | 135 | 229 |
| France | 61 | 59 |
| Danemark | 47 | — |
| Arabie saoudite | — | 300 |
| Total des dons sans restriction | 7474 | 8004 |
| Avec restriction | | |
| Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD) | 690 | 639 |
| Italie | 500 | 500 |
| Belgique | 110 | 105 |
| Total des dons avec restriction | 1300 | 1244 |
| Total général des dons | 8774 | 9248 |

Figure 33. Budget sommaire des ressources (en milliers de dollars) et de leur affectation.

| | 1985 | 1984 |
|---|---|---|
| RESSOURCES | | |
| Financement central | | |
| Sans restriction | | |
| Dons sans restriction | 7474 | 8004 |
| Solde année précédente | — | — |
| Revenu affecté dans l'année | 289 | 144 |
| Total du financement sans restriction | 7763 | 8148 |
| Total du financement avec restriction | 1300 | 1244 |
| Total du financement avec ou sans restriction | 9063 | 9392 |
| Transfert au capital | (285) | (482) |
| Financement net avec ou sans restriction | **8778** | **8910** |
| Capital | | |
| Transféré du financement central | 285 | 482 |
| Solde non dépensé de l'année précédente | 419 | — |
| Solde du fonds de roulement de l'année précédente | 778 | 687 |
| Solde du fondes autorenouvelable de l'année précédente | 100 | 100 |
| Total du capital | **1582** | **1269** |
| Opérations spéciales | | |
| Bêtes sauvages | 167 | 236 |
| Trypanotolérance | 137 | — |
| Total des opérations spéciales | **304** | **236** |
| TOTAL DES RESSOURCES | **10664** | **10415** |
| AFFECTATIONS | | |
| Fonctionnement central | 8778 | 8491 |
| Capital | 426 | 391 |
| Opérations spéciales | 304 | 236 |
| Reliquats | | |
| Central sans restriction | 278 | 419 |
| Fonds de roulement | 778 | 778 |
| Fonds autorenouvelable | 100 | 100 |
| TOTAL DES AFFECTATIONS | **10664** | **10415** |

Figure 34. Bilan au 31 décembre 1985.

| | 1985 | 1984 |
|---|---|---|
| AVOIRS | | |
| Avoirs fixes | | |
| Terrain et bâtiments | 10125 | 9882 |
| Outillage scientifique | 5040 | 4875 |
| Avoirs divers | 1943 | 1871 |
| Compagnie subsidiaire: | | |
| Investissement | 1786 | 1728 |
| Prêt à long terme | — | 58 |
| Total partiel | 18894 | 18414 |
| Fonds de roulement | | |
| Prêts | 93 | 86 |
| Encaisse | 7 | 14 |
| Total partiel | 100 | 100 |
| Avoirs actuels nets | 1056 | 1197 |
| TOTAL DES AVOIRS EN SERVICE | 20050 | 19711 |
| BILAN DES FONDS | | |
| Capital | 18894 | 18414 |
| Fonctionnement | | |
| Excédent du financement sans restriction | 778 | 778 |
| Fonds de roulement | 278 | 419 |
| TOTAL DES FONDS | 100 | 100 |
| | 20050 | 19711 |