

- PN-ABD-467 / 1986 -

ILRAD

1986



RAPPORT ANNUEL DU  
LABORATOIRE INTERNATIONAL DE  
RECHERCHES SUR LES MALADIES ANIMALES

Fondé en 1973, le Laboratoire international de recherches sur les maladies animales (ILRAD) a pour mandat de trouver des méthodes efficaces de lutte contre des maladies du bétail qui limitent gravement la production alimentaire mondiale. Les recherches de l'ILRAD portent principalement sur la trypanosomiase animale d'Afrique et sur la lièvre de la Côte orientale, forme de theilériose.

L'ILRAD est un des 13 centres du réseau mondial de recherches agricoles que patronne le Groupe consultatif pour la recherche agricole internationale (GCRAI). Le financement central de l'œuvre de recherche et de formation de l'ILRAD provenait, en 1986, de la Banque Mondiale (Banque internationale pour la reconstruction et le développement: BIRD), du Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD), de la Banque africaine de développement (BAD), de la Fondation Rockefeller, et des États suivants: Allemagne fédérale, Australie, Belgique, Canada, Danemark, États-Unis, France, Italie, Japon, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni, Suède, Suisse. Des accords spéciaux de financement permettent des recherches supplémentaires, accords conclus avec la Communauté économique européenne (CEE), l'Organisation mondiale de la santé (OMS), et les États suivants: Allemagne fédérale, Belgique, France, Italie, Japon, Pays-Bas, Royaume-Uni, Suisse.

L'ILRAD assume l'entière responsabilité des idées exprimées dans le présent *Rapport* et des renseignements qui y sont consignés. La mention d'une marque commerciale ne veut pas forcément dire que l'ILRAD recommande le produit en question.

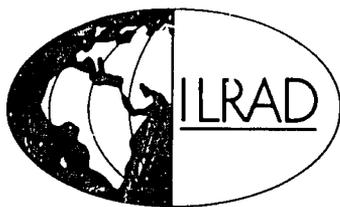
Voici la référence officielle du présent *Rapport*: ILRAD (Laboratoire internationale de recherches sur les maladies animales). 1987. *ILRAD 1986*. Nairobi, ILRAD.

ISBN 92-9055-186-0.

Numéro au catalogue de la Library of Congress des États-Unis: 82-981264.

# ILRAD: 1986

RAPPORT ANNUEL DU  
LABORATOIRE INTERNATIONAL DE  
RECHERCHES SUR LES MALADIES ANIMALES



B P 30709 NAIROBI (KENYA)

# AVANT-PROPOS

Fondé en 1973, le Laboratoire international de recherches sur les maladies animales (ILRAD) a pour mandat de faire des recherches très actives pour trouver comment mieux combattre les maladies du bétail. L'ILRAD occupe maintenant un ensemble complexe de laboratoires de recherche et d'installations auxiliaires à Kabété, dans la banlieue de Nairobi (Kénya); il dispose aussi d'une station de reproduction des bovins à Kapiti, à environ 50 kilomètres de Nairobi. L'effectif du personnel de l'ILRAD se composait, en 1986, de 49 fonctionnaires supérieurs, scientifiques ou administratifs, de 24 techniciens spécialisés, de 48 techniciens auxiliaires, et de 285 agents des services généraux.

L'œuvre de recherche et de formation de l'ILRAD porte essentiellement sur les côtés immunologiques et connexes de deux maladies qui limitent gravement la production alimentaire de l'Afrique et d'autres régions en développement: la trypanosomiase animale d'Afrique et la fièvre de la Côte orientale (FCO), forme virulente de theilériose.

Malgré les intenses efforts de recherche de l'ILRAD et de plusieurs autres laboratoires, la situation actuelle n'est pas, en ce qui concerne la maîtrise de la FCO et de la trypanosomiase, complètement satisfaisante. La lutte contre la FCO repose avant tout sur la lutte contre la tique vectrice au moyen d'un traitement acaricide régulier, sur une

sage gestion des pâturages et sur l'exclusion de la faune sauvage. Deux nouveaux produits sont apparus sur le marché pour traiter les animaux infectés, mais ils coûtent cher, et il faut avoir diagnostiqué la maladie très tôt pour que le traitement réussisse. C'est pourquoi l'ILRAD continue à chercher un moyen pratique d'immuniser les bêtes contre la FCO. Les recherches se poursuivent dans trois domaines: vaccination par infection plus traitement, et mise au point de meilleures méthodes d'immunisation, soit au moyen d'éléments tirés des sporozoïtes de *Theileria*, soit au moyen des schizontes de ce parasite.

Pour immuniser par infection plus traitement, il faut injecter simultanément des sporozoïtes vivants et un antibiotique du groupe de la tétracycline. Les recherches que l'ILRAD poursuit dans ce domaine visent principalement à améliorer les méthodes dont on dispose pour caractériser les lignées de *Theileria*, de façon à mieux comprendre la répartition géographique des diverses lignées et leur caractère immunogène. Nous contrôlons aussi cette méthode d'immunisation dans différentes situations locales. Il y a eu des contrôles sur le terrain au Kénya; il y en a maintenant en Tanzanie et au Zimbabwe, en étroite collaboration avec les laboratoires et les services vétérinaires de ces deux pays. Ces contrôles nous renseignent sur l'efficacité et les avantages écono-

miques de l'immunisation contre la FCO dans toute une gamme de situations épidémiologiques, tant dans de petites exploitations que dans les élevages commerciaux (lait ou viande). Si nous constatons le succès de cette méthode, on pourra adopter l'immunisation par infection plus traitement comme la façon régulière de combattre la FCO.

Le sporozoïte est la forme de la theiléria que les tiques infectées transmettent aux bovins. Nous avons identifié, à la surface des sporozoïtes, des antigènes qui suscitent chez les bovins la production d'anticorps neutralisants. Il semble bien que ces anticorps soient communs aux sporozoïtes de toutes les lignées de *Theileria* que nous avons étudiées jusqu'ici, ce qui nous laisse espérer qu'on pourra s'en servir pour conférer la résistance à la FCO aux bovins d'une vaste région géographique. Nous avons déterminé une séquence partielle d'acides aminés chez un de ces antigènes, et nous sommes servis de cette séquence pour synthétiser un polypeptide. Nous identifions actuellement, d'autre part, les gènes qui codent ces antigènes et d'autres antigènes des sporozoïtes. Notre objectif est de synthétiser, soit biochimiquement soit par la technique de l'ADN recombinant, des antigènes qu'on pourra employer à des essais d'immunisation.

On sait d'autre part que, chez les bovins, des réactions immunitaires de protection visent la forme schizonte de *Theileria*, qui apparaît à l'intérieur des globules blancs des bêtes infectées. Le troisième domaine des recherches de l'ILRAD qui concernent la FCO est donc de trouver un vaccin dérivé des antigènes des schizontes, vaccin qu'on administrerait seul ou conjointement avec un vaccin dérivé des sporozoïtes. Il y a plusieurs années que nous cherchons à définir les réactions immunitaires des bovins aux schizontes de *Theileria*: à l'heure actuelle, nous employons les techniques d'immunologie, de biochimie et de biologie moléculaire que nous avons mises au point à l'ILRAD pour identifier les antigènes de schizonte qui

suscitent les réactions de protection, pour déterminer leur structure et pour isoler les gènes qui y correspondent.

Quand nous aurons identifié un de ces antigènes, il faudra encore des recherches pour trouver la meilleure façon d'en faire un vaccin. Nous commençons à étudier l'éventualité de systèmes de vaccination virale et d'autres procédés, plus classiques, d'immunisation, en vue d'arriver au meilleur vaccin possible à employer très largement contre la FCO. Si nous réussissons à trouver un vaccin contre la FCO, cela pourra nous conduire aussi à des vaccins contre d'autres formes de theilériose.

La lutte contre la trypanosomiase repose beaucoup sur l'emploi d'insecticides pour combattre les glossines, insecte vecteur de la maladie, et sur l'emploi de trypanocides, soit pour prévenir l'infection, soit pour traiter les bêtes infectées. On a de nouvelles techniques pour combattre certaines espèces de glossine; mais en fin de compte la superficie de l'Afrique où sévissent les glossines n'a pas diminué, mais augmenté. D'autre part, il y a bientôt 30 ans qu'il n'est pas apparu sur le marché un nouveau trypanocide d'emploi général; et il reste le sérieux risque de voir naître la résistance à tel ou tel trypanocide.

L'ILRAD a, pour améliorer la lutte contre la trypanosomiase, des stratégies à but immédiat et d'autres qui visent plus loin. Dans l'immédiat, mieux comprendre la situation épidémiologique aidera les organisations nationales à concevoir de meilleurs programmes de lutte et à en contrôler l'efficacité. Dans ce domaine, nous travaillons à trouver des techniques diagnostiques plus sensibles et plus précises pour déceler la trypanosomiase tant chez les bêtes que chez les glossines elles-mêmes. Pour la chimiothérapie de la trypanosomiase, nous mettons au point de meilleures techniques pour mesurer la concentration du produit chez les animaux traités, et aussi pour contrôler *in vitro* la résistance d'isolats de trypanosomes à tel ou tel produit. Nous avons, en 1986, étendu nos travaux dans ce domaine, avec l'appui

partiel de l'Organisation mondiale de la santé (OMS).

En collaboration avec le Centre international pour l'élevage en Afrique (CIPEA) et avec le Centre international de trypanotolérance (Gambie), nous participons au Réseau du bétail africain trypanotolérant, dont les travaux se poursuivent dans huit pays. Ce Réseau entreprend des recensements de glossines et des études sur la santé du bétail et sa production selon différentes situations écologiques et différents régimes de gestion; il s'agit surtout des bovins ndama et d'autres races africaines de bétail qui ont manifesté une certaine résistance à trypanosomiase. Nous avons, en 1986, revu complètement les objectifs du Réseau et son œuvre; le CIPEA a publié un rapport détaillé sur les résultats obtenus par le Réseau de 1983 à 1985.

Le but plus lointain des recherches sur la trypanosomiase est de trouver de nouvelles méthodes de lutte contre la maladie par des moyens immunologiques, chimiothérapeutiques ou génétiques. Il faut pour cela des recherches de base sur la biologie des trypanosomes, sur la façon dont leurs hôtes leur résistent et sur les conséquences de l'action réciproque du parasite sur l'hôte et de l'hôte sur le parasite. On a fait de sérieux progrès, à l'ILRAD et ailleurs, dans la connaissance de la variation antigénique, sa génétique et sa biochimie: nous avons constaté chez les trypanosomes l'exceptionnelle permutation des gènes et des cheminements métaboliques qu'on ne connaît pas chez les mammifères: autant de cibles éventuelles pour une attaque immunologique ou chimiothérapeutique. Nous avons d'autre part poussé nos recherches sur les phénomènes génétiques et biochimiques qui interviennent dans la différenciation des trypanosomes au cours de leur cycle vital, pour découvrir, là encore, de nouvelles cibles à viser. Grâce à la mise au point de systèmes de culture *in vitro* pour les trypanosomes, grâce aussi aux progrès réguliers de la biologie moléculaire, nous sommes maintenant capables de recherches qui n'étaient pas techniquement

possibles au moment de la fondation de l'ILRAD. L'OMS compte sur l'ILRAD pour des recherches sur d'éventuelles méthodes d'immunisation contre la trypanosomiase, et un de nos chercheurs fait partie du Comité de la trypanosomiase africaine de l'OMS.

En ce qui concerne la biologie de l'hôte mammifère, ce qui caractérise les hôtes résistants (comme les bovins ndama), c'est le pouvoir qu'ils ont de maîtriser la croissance des trypanosomes, de résister aux effets pathologiques de l'infection (à l'anémie, par exemple), et d'avoir des réactions immunitaires de protection. Ce qui a facilité nos études sur la résistance, c'est que nous avons mis au point, à l'ILRAD, des réactifs pour analyser les différentes réactions immunitaires tant chez les bovins résistants que chez les bovins sensibles. Nous allons beaucoup travailler dans ce sens dans les années qui viennent. Même si nous n'arrivons pas, grâce à ce travail, à trouver de nouveaux moyens immunologiques ou chimiothérapeutiques de lutte contre la trypanosomiase, une meilleure connaissance des dispositifs de résistance nous permettra au moins d'identifier les races de bétail, à la fois productives et résistantes, à introduire dans les régions d'Afrique où sévit la mouche tsé-tsé.

Nos travaux relatifs aux différents aspects de la trypanosomiase, et notamment ses aspects immunologiques, se poursuivent en liaison avec l'Institut kényen de recherches sur la trypanosomiase (KETRI), l'Organisation ougandaise de recherches sur la trypanosomiase (UTRO), le Centre de recherches sur les trypanosomiasés animales (CRTA) du Burkina-Faso, et le Centre international de trypanotolérance de la Gambie. Le Directeur général de l'ILRAD fait partie du Comité exécutif du Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiasés et leur contrôle du Bureau inter-africain des ressources animales de l'Organisation de l'unité africaine (BIRA/OUA). Au Kenya, l'ILRAD est membre fondateur de la «Famille de Nairobi», asso-

ciation d'instituts qui poursuivent des recherches sur la trypanosomiase, la theilériose et d'autres maladies transmises par les tiques, ainsi que sur les vecteurs de ces deux groupes de maladies. Les membres de cette famille sont: le KETRI, le Centre international de physiologie et d'écologie des insectes (CIPE), le Laboratoire kenyan de recherche vétérinaire, le Service des recherches vétérinaires de l'Institut kényen de recherche agricole, le BIRA/OUA, le CIPEA, les Facultés des sciences, de médecine et de médecine vétérinaire de l'Université de Nairobi, le Centre de recherches cliniques de l'Institut kényen de recherches médicales. La collaboration entre les membres de cette «famille» consiste en l'échange de matériaux de recherche, en visites scientifiques et en séances d'étude.

Les recherches de l'ILRAD, sur la theilériose comme sur la trypanosomiase, reçoivent maintenant une impulsion supplémentaire, celle d'un nouveau groupe de recherches créé en 1986 grâce à un financement spécial de la Fondation Rockefeller. Ce groupe est chargé d'étudier les avantages sociaux et économiques de meilleures mesures de lutte contre les maladies du bétail.

L'œuvre de formation de l'ILRAD s'accomplit à trois niveaux. D'une part nous formons des chercheurs, candidats au doctorat ou déjà titulaires du doctorat, qui pourront développer la base de recherches de leur pays et avec qui l'ILRAD pourra collaborer dans l'avenir. Au deuxième niveau, nous cherchons à identifier, parmi les jeunes agents d'exécution, ceux qu'on chargera d'appliquer en pratique les nouvelles mesures de lutte contre la trypanosomiase ou la FCO. Pour cela, nous organisons des stages pertinents, à l'ILRAD ou ailleurs, ainsi que des périodes individuelles de formation en laboratoire. Enfin, au troisième niveau, il s'agit de former le personnel technique dont on a besoin pour soutenir aussi bien les chercheurs que les agents d'exécution. Outre son œuvre propre de formation, l'ILRAD procure régulièrement du person-

nel et des facilités de laboratoire pour soutenir les stages régionaux de formation organisés par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Agence internationale pour l'énergie atomique (AIEA), et d'autres organisations.

Étant un des 13 centres internationaux de recherches agricoles que soutient le Groupe consultatif pour la recherche agricole internationale (GCRAI), l'ILRAD devait subir un deuxième examen externe de ses programmes et de sa gestion. Cet examen s'est achevé en janvier 1986. Les jurys d'examen ont approuvé, dans l'ensemble comme dans le détail, la qualité des recherches scientifiques qui se poursuivent à l'ILRAD. Ils ont reconnu que le programme de formation et l'œuvre d'information qui accompagnent ces recherches sont incomparablement meilleurs qu'ils n'étaient en 1981, date du premier examen, que le personnel scientifique et le personnel auxiliaire étaient à la hauteur de la situation, tant par leur compétence que par leur dévouement, et que les installations auxiliaires des recherches sont excellentes et fonctionnent très bien. Après un examen approfondi de la part de ces jurys d'examen, et aussi, plus tard dans l'année, de la part du Comité consultatif technique (TAC) du GCRAI, les objectifs ultimes de l'ILRAD restent les mêmes: trouver des mesures sans danger, efficaces et économiquement raisonnables pour maîtriser les maladies du bétail. La FCO et la trypanosomiase restent les principaux objectifs de cette recherche.

Les jurys d'examen ont recommandé de construire à l'ILRAD des laboratoires supplémentaires pour remédier au surpeuplement des installations actuelles et pour employer avec plus de profit les unités spécialisées. La construction d'un de ces nouveaux laboratoires est presque achevée, et nous remaniions actuellement la répartition du personnel de recherche pour lui permettre de se consacrer mieux à des recherches nouvelles. Nous appliquons en effet les recommandations faites par les jurys d'examen quant à des modifications dans l'organisa-

tion des recherches et à leur gestion.

Les jurys d'examen ont pressé l'ILRAD de renforcer sa collaboration avec les organisations nationales d'Afrique. Pour cela, nous engageons actuellement un nouveau fonctionnaire, qui sera chargé de discerner, puis d'établir, des contacts avec des groupes de chercheurs au travail en Afrique—contacts mutuellement profitables—, et d'organiser davantage d'échanges de chercheurs au titre soit de recherches conjointes, soit du programme des boursiers de recherche. Nous allons construire en 1987 un nouveau bâtiment pour les fonctions croissantes qu'exerce l'ILRAD en matière de formation et d'information; nous bénéficions pour cela d'un financement spécial que nous devons au Gouvernement néerlandais.

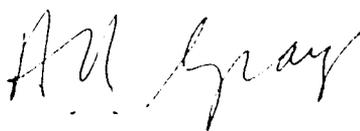
Je veux, pour conclure cet avant-propos, faire l'éloge du Conseil des directeurs, du personnel—tant scientifique qu'auxiliaire—, ainsi que des organisations donatrices et des pays donateurs, pour le soutien qu'ils apportent tous à l'œuvre de recherche et de formation de l'ILRAD. Quatre membres du Conseil des directeurs l'ont quitté en 1986: le docteur L.L. Callow, le professeur K. Eichmann, M. J.S. Mburu et le docteur K. Wells. Ceux qui ont pris leur place sont les suivants: le professeur P.C. Doherty, de l'École de recherches médicales John Curtin (Australie), le professeur H.E. Jahnke, de l'Université technique de Berlin (Allemagne fédérale), le docteur C. L'Écuyer, du Ministère canadien de l'agriculture, le docteur A.R. Njogu, directeur de KETRI. C'est aussi en 1986 qu'un des éminents chercheurs de l'ILRAD, le docteur Hiroyuki Hirumi, a reçu le 30ème Prix médical Noguchi, pour ses travaux sur la culture des trypanosomes *in vitro*.

Nous sommes reconnaissants à beaucoup de pays et d'organisations de l'intérêt qu'ils portent à l'ILRAD et du soutien qu'ils lui apportent. En 1986, l'ILRAD a continué à recevoir son financement central de la Banque mondiale (Banque internationale pour la reconstruction et le développement—BIRD), du Programme des Nations Unies

pour le développement (PNUD), et des Etats suivants: Allemagne fédérale, Australie, Belgique, Canada, Danemark, Etats-Unis, France, Italie, Japon, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni, Suède, Suisse. Pendant l'année, la Fondation Rockefeller et la Banque africaine de développement (BAD) se sont jointes aux donateurs. Des recherches supplémentaires reçoivent leur financement de la Communauté économique européenne (CEE), de l'OMS et des Etats suivants: Allemagne fédérale, Belgique, France, Italie, Japon, Pays-Bas, Royaume-Uni, Suisse.

L'ILRAD a eu l'honneur, en 1986, de recevoir la visite de plusieurs hôtes éminents, parmi lesquels: Mme M. Catley-Carson, Présidente de l'Agence canadienne de développement international, le docteur E. Schuh, Directeur de l'agriculture à la Banque mondiale, Mme N. Robinson, Vice-présidente pour l'administration de la Fondation Rockefeller, et le docteur K. Prewitt, Vice-président de cette Fondation pour l'Afrique. Trois membres éminents du Gouvernement kényen nous ont rendu visite pendant l'année: LL.EE. W.O. Omamo, Ministre de l'agriculture et du progrès de l'élevage, W. Saina, Ministre-adjoint de l'agriculture et du progrès de l'élevage, et B. Kiplagat, Secrétaire permanent du Ministère des affaires étrangères. L'ILRAD a aussi reçu la visite de LL.EE. les Ambassadeurs de Belgique, du Danemark, des Etats-Unis, de Finlande, d'Italie, de Norvège, de Suède et de Suisse, ainsi que des Hauts-Commissaires de l'Australie et du Canada.

Disons enfin que c'est toujours un plaisir que de rendre hommage à l'appui que, d'année en année, l'ILRAD reçoit du peuple du Kenya et du Gouvernement kényen. Nous espérons bien que ces rapports cordiaux avec nos hôtes vont continuer.



A. R. Gray  
Directeur général de l'ILRAD

# TABLE DES MATIERES

<b>Avant-propos</b> .....	3
<b>Theilériose</b> .....	10
Epidémiologie, immunisation expérimentale.....	11
Caractériser les lignées.....	12
Emploi de sondes d'ADN.....	12
Analyse des protéines des schizontes .....	14
Obtenir des clones de <i>Theileria</i> .....	14
Profils dus aux anticorps monoclonaux: <i>T p lawrencei</i> et <i>T p bovis</i> ....	16
Immunisation par infection plus traitement.....	17
Améliorer l'infection immunisante .....	17
Améliorer le traitement immunisant .....	17
Antigènes des sporozoïtes et réactions immunitaires.....	18
Invasion des cellules de l'hôte par les sporozoïtes .....	19
Réactions immunitaires et cellules infectées par des schizontes .....	20
Caractériser les types de cellules bovines .....	20
Classement des types de CMH .....	24
Prolifération des cellules infectées.....	25
Variations antigéniques sur les cellules infectées .....	26
Réactions immunitaires aux cellules infectées.....	26
Spécificité à l'égard des lignées.....	27
Comparaison avec les réactions immunitaires des buffles .....	28
Immunisation contre les tiques .....	29
<b>Trypanosomiase</b> .....	30
Mieux combattre les trypanosomes .....	31
Glycoprotéines superficielles variables .....	32
Antigènes invariants des trypanosomes.....	34
Le métabolisme des trypanosomes .....	36
Culture des trypanosomes <i>in vitro</i> .....	38
Meilleures réactions de l'hôte .....	40
Dans la peau d'abord .....	40

Rapports des trypanosomes et de l'hôte dans le courant sanguin .....	42
Maîtriser la croissance des trypanosomes .....	42
La production d'anticorps par l'hôte .....	42
Un réactif de phase aiguë .....	45
Bovins trypanotolérants et bovins sensibles .....	46
Parasitémie et anémie .....	46
Changements des populations de globules blancs .....	48
Poids, gain de poids vif, reproduction .....	48
Epidémiologie .....	50
Caractériser les trypanosomes .....	50
Classement sérologique .....	50
Emploi de sondes d'ADN .....	50
Analyse des isoenzymes et des protéines .....	52
Production du bétail en danger de trypanosomiase .....	52
Produits trypanocides; leur détection et leur contrôle <i>in vitro</i> .....	52
Produits trypanocides; leur détection et leur contrôle <i>in vivo</i> .....	54
Produits trypanocides; évaluer la protection conférée .....	55
Les glossines vectrices de la trypanosomiase .....	57
Réseau africain du bétail trypanotolérant .....	58
La densité des glossines et leur taux d'infection .....	59
Evaluation du danger des glossines .....	60
Infection du bétail par les trypanosomes .....	60
Anémie .....	61
Reproduction et poids vif .....	62
La productivité des Ndamas en Gambie .....	62
<b>Services de formation et d'information</b> .....	64
Formation .....	64
Réunions .....	66
Services d'information .....	67
La bibliothèque de l'ILRAD .....	68
<b>Services auxiliaires</b> .....	70
Laboratoire glossine .....	70
Laboratoire tique .....	70
Production de bétail .....	72
Animaux de laboratoire .....	73
Services cliniques et diagnostiques .....	74
Biostatistique et informatique .....	75
<b>Publications de 1986</b> .....	76
<b>Conseil des Directeurs</b> .....	82
<b>Personnel</b> .....	83
<b>Situation financière</b> .....	90

# THEILERIOSE

On appelle theilériose le complexe de maladies—transmises par les tiques—dont les agents sont des protozoaires parasites du genre *Theileria*. Ces parasites infectent les bovins et d'autres animaux domestiques en beaucoup de régions du monde, et gênent gravement le développement et l'amélioration de la production du bétail.

Les espèces de *Theileria* les plus importantes sont: *Theileria parva*, agent de la fièvre de la Côte orientale (FCO) qui atteint les bovins en Afrique orientale et centrale, et *T. annulata*, qui cause la theilériose tropicale chez les bovins du littoral méditerranéen, du Levant, de l'Inde, de la Russie méridionale et de l'Asie. D'autres espèces de *Theileria* sont importantes aussi: *T. sergenti*, *T. orientalis* et *T. mutans* chez les bovins, *T. lhreri* chez les ovins et les caprins.

Nos travaux, à l'ILRAD, concernent essentiellement *T. parva*, qui cause une forme virulente de theilériose dont sont menacés quelque 25 millions de bovins au Kenya, en Tanzanie, en Ouganda, dans le Soudan méridional, au Rwanda, au Burundi, au Zaïre, au Malawi, en Zambie, au Zimbabwe et au Mozambique. On emploie l'abréviation FCO pour désigner la maladie bien connue causée par *Theileria parva parva*, et transmise d'un bovin à un autre par des tiques. On emploie le terme «corridor» pour la maladie que cause *T. p. lawrencei* et que des tiques transmettent des buffles sauvages (*Syncerus caffer*) aux bo-

vins domestiques. *T. p. bovis* cause une forme bénigne de theilériose.

Les sous-espèces *T. p. parva* et *T. p. lawrencei* ont toutes les deux un cycle vital complexe dans leur hôte mammifère et dans l'arthropode qui est leur vecteur: la tique brune de l'oreille, *Rhipicephalus appendiculatus*. Cette tique pique les bovins aux trois étapes de sa vie: quand elle est larve, quand elle est nymphe et quand elle est adulte.

C'est d'une étape à l'autre qu'elle transmet les theilérias, d'ordinaire quand elle a, à l'état nymphal, piqué une bête infectée et quand, à l'état adulte, elle pique une bête indemne.

Les sporozoïtes de *Theileria* se développent dans la glande salivaire des tiques infectées, et s'introduisent chez les bovins dans la salive de la tique qui les pique. Une fois chez leur hôte, ils s'attachent aux lymphocytes—les globules blancs du système immunitaire—et y pénètrent. A l'intérieur des lymphocytes, les sporozoïtes évoluent: ils deviennent ce qu'on appelle des schizontes. Les lymphocytes infectés deviennent de grosses cellules, qu'on appelle lymphoblastes, cellules qui se multiplient en même temps que les schizontes, d'où une rapide expansion de cette population de cellules parasitées. La caractéristique des dernières étapes de cette infection est une très grande destruction des cellules, ce qui amène souvent la mort de l'animal atteint.

Au cours de l'infection, certains des schi-

zontes de *Theileria* se différencient et deviennent des mérozoïtes, qui sortent des lymphocytes et passent dans le courant sanguin. Ces mérozoïtes envahissent les globules rouges et y prennent la forme de piroplasmies. Les tiques s'infectent quand elles absorbent des globules rouges qui contiennent des piroplasmies. Dans l'intestin des tiques, les theilérias subissent, d'autres transformations, traversent la paroi de l'intestin pour pénétrer dans la cavité générale du corps, et se rendent dans la glande salivaire. Là, elles forment un sporoblaste complexe intracellulaire. Stimulé par les repas de la tique, le sporoblaste produit de 30.000 à 50.000 sporozoïtes infectieux. Ces sporozoïtes pénètrent, avec la salive de la tique, dans un nouvel hôte mammifère, commençant ainsi un nouveau cycle vital.

Pour lutter contre la FCO, on recourt surtout actuellement à des bains ou aspersion du bétail avec des acaricides, pour tuer les tiques vectrices. Or des bains ou aspersion sont coûteux quand ils sont fréquents; d'autre part, s'il faut les interrompre pour une raison ou une autre, le bétail reste entièrement sensible à la maladie. Il pourrait aussi arriver que des tiques deviennent résistantes aux acaricides que nous avons. Il existe deux produits curatifs pour le traitement de la FCO: mais ce traitement pharmaceutique est coûteux, et il faut, pour qu'il soit tout-à-fait efficace, qu'on ait diagnostiqué la maladie très tôt. Il faut donc de toute urgence trouver d'autres méthodes pour lutter contre la FCO.

Il arrive souvent que les bovins qui guérissent de la FCO manifestent ensuite une immunité durable. Mais il existe dans la plupart des stations différentes lignées de *T parva*, et l'immunité à l'égard d'une lignée donnée ne protège pas forcément contre une autre. On ignore le nombre total des lignées responsables de la FCO; mais il se peut que ce nombre soit limité en certains endroits, et il apparaît que certains isolats ou combinaisons d'isolats confèrent une large protection. Nous avons de ce fait bon espoir d'arriver à maîtriser la FCO par la vaccina-

tion. C'est une perspective à laquelle l'ILRAD s'attache tout particulièrement.

## EPIDEMIOLOGIE, IMMUNISATION EXPERIMENTALE

Les premières recherches sur la FCO, qui avaient commencé en Afrique australe et s'étaient ensuite développées au Kenya, sous l'égide de l'ancienne Organisation est-africaine de recherches vétérinaires, ont abouti à des procédés expérimentaux d'immunisation qui consistent à infecter le sujet avec des sporozoïtes de *T p parva* et à le traiter en même temps avec un antibiotique à effet durable du groupe oxytétracycline. Si l'on applique cette méthode convenablement, elle constitue la forme d'immunisation actuellement la plus pratique et la plus efficace, et plusieurs pays l'expérimentent très largement sur le terrain. Ses désavantages sont qu'il faut régler avec beaucoup de soin l'infection au moyen de theilérias vivantes, et aussi qu'on peut ne pas arriver à une protection complète aux endroits où il y a plusieurs lignées différentes de *Theileria*. De plus, il se peut que les bovins immunisés deviennent porteurs des parasites employés pour leur immunisation.

Ce dont on a le plus urgent besoin, pour mieux comprendre l'épidémiologie de la FCO ainsi que pour améliorer et étendre la lutte par infection plus traitement, c'est d'avoir une méthode sûre pour caractériser les lignées de theilérias et repérer les systèmes d'interprotection. La seule méthode tout-à-fait sûre dont on dispose actuellement est de vérifier cette interprotection sur des animaux, mais cela prend du temps et coûte très cher. C'est pourquoi nous mettons au point plusieurs méthodes *in vitro* pour caractériser les lignées.

Des expériences d'immunisation sur le terrain ont commencé en 1986 en Tanzanie et au Zimbabwe, avec des theilérias isolées localement. Cette opération, jointe aux résultats déjà obtenus au Kenya, devrait nous fournir d'importants renseignements

sur l'efficacité de l'immunisation par infection plus traitement dans toute une série de situations épidémiologiques.

## CARACTERISER LES LIGNEES

Les réactions immunitaires de protection contre la FCO semblant bien être spécifiques des lignées, il faut que l'immunisation, pour être efficace, suscite des réactions contre la lignée (ou les lignées) de *Theileria* qui se présente dans une situation locale donnée. C'est pourquoi nous avons fait beaucoup de recherches, à l'ILRAD, pour trouver des techniques précises et pratiques qui permettent d'identifier les sous-espèces et lignées de *Theileria*.

Nous avons entrepris en 1986 des études très actives pour mettre au point un système normalisé qui permettrait de caractériser les theilérias au moyen de toute une série de techniques. Notre objectif est d'obtenir un système de caractérisation dont on pourra se servir pour identifier les theilérias isolées sur le terrain d'un bout à l'autre de la région où la FCO est endémique. Nous avons choisi tout d'abord six souches de *Theileria*, et nous faisons avec elles l'expérience de plusieurs techniques: emploi de sondes d'ADN, analyse des protéines des schizontes par électrophorèse à deux dimensions sur gélose, examen du profil des anticorps monoclonaux, etc. Nous nous efforçons d'autre part de trouver des techniques pour obtenir des populations de *Theileria* plus homogènes.

Nous avons donc choisi pour ces recherches quatre lignées de *T p parva*: Muguga, Marikébuni, Mariakani, Ouganda, plus la souche Boléni de *T p bevis* et la souche 7014 de *T p lawrencei*. En partant de stabiliats de ces souches (qui nous servent de référence), nous avons préparé des stabiliats volumineux comme matériaux de travail; nous avons pour cela moulu des tiques tout entières ou pris des dissections de glande salivaire de tiques. Nous développons actuellement ces six souches—qui peut-être sont homogènes et peut-être ne le

sont pas—, nous les titrons et nous les logeons dans les mêmes lignées de cellules bovines, de façon à pouvoir comparer les theilérias dans un même cadre de cellules.

## Emploi de sondes d'ADN

Nous avons poursuivi en 1986 les études qui ont pour but de trouver des séquences d'ADN, répétées ou simples, qui pourraient nous servir de sondes pour distinguer les sous-espèces ou lignées de *T parva*. Il nous faut pour cela des sondes d'ADN assez sensibles pour d'hybrider avec l'ADN des schizontes de *Theileria* dans des préparations de lymphocytes bovins infectés, où l'ADN du parasite se distinguera de l'ADN de la cellule de l'hôte. Notre but est de savoir avec précision si les différences génomiques que révèlent les sondes de séquences d'ADN peuvent nous renseigner sur les rapports entre différentes souches de *T p parva* et sur leur pouvoir de susciter chez les bovins une réaction immunitaire interprotectrice. Il y aurait là un bon instrument pour identifier les souches de *T p parva* à employer en vue d'un vaccin.

Nous avons constitué, avec l'ADN de piroplasmés de *T p parva* Muguga, une collection d'expressions génomiques, et l'avons criblée avec de l'ADN total, radiomarké, de piroplasmés de *T p parva* Muguga et de l'ADN total pris à des lymphocytes bovins non infectés. Dix clones ont manifesté des réactions très positives, spécifiques des theilérias; nous en avons choisi trois pour les caractériser encore davantage. Toutes ces sondes s'hybridaient avec l'ADN des piroplasmés de *T p parva* et avec l'ADN des schizontes dans les cellules lymphoïdes infectées, mais ne s'hybridaient pas avec les cellules non infectées. Nous avons pu d'autre part distinguer différentes souches kényennes de *T p parva* d'après l'hybridation des trois sondes, choisies par nous, avec l'ADN des piroplasmés ou des cellules lymphoblastoïdes infectées (figure 1).

Ces trois sondes ne se sont pas hybridées avec l'ADN de trois autres espèces de

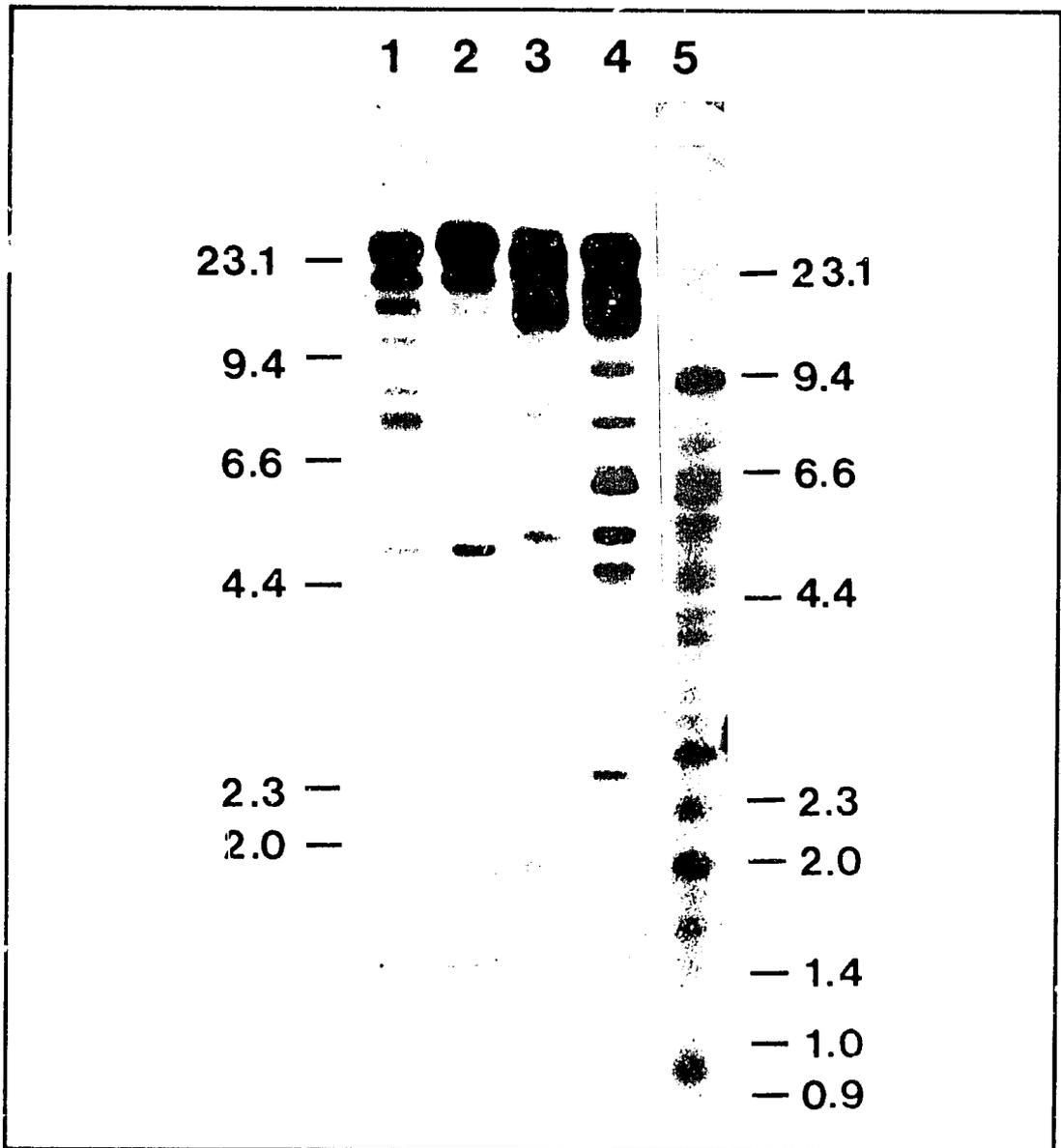


Figure 1. Cette autoradiographie dessine l'hybridation de l'ADN des piroplasmes de 5 lignées de *Theileria parva* (après digestion par *EcoRI*) sous l'effet de sondes d'1gTpM-23 (une des trois sondes d'ADN de *T parva* produites à l'ILRAD). Le dessin des hybridations montre de claires différences entre les lignées sondées. 1 = Muguga, 2 = Kilifi, 3 = Mariakani, 4 = Kibarani, 5 = Marikébuni.

*Theileria*: *T mutans*, *T taurotragi* et *T annulata*. Il reste certainement d'autres isolats à contrôler; ce fait pourtant donne à penser que ces sondes sont spécifiques d'une espèce. Nous procédons maintenant à des expériences dont le but est de déterminer si

elles sont spécifiques de la sous-espèce *T p parva* ou si elles reconnaissent aussi la sous-espèce *T p lawrencei*.

Nous avons sous-cloné deux de ces sondes sous la forme de plasmides, et vérifions actuellement si l'on peut s'en servir

pour identifier les theilérias chez des tiques infectées ou dans des spécimens de tissus de bovins infectés. Nous nous en servons aussi pour découvrir si les différents génotypes que les sondes d'ADN révèlent chez des theilérias de la même souche sont en corrélation avec leur plus ou moins grand pouvoir d'incitation, *in vitro*, aux réactions de cellules T cytolytiques. D'autre part, nous caractérisons actuellement d'autres sondes d'ADN, prises dans une collection génomique de *T p parva* Mariaakani.

#### Analyse des protéines des schizontes

Nous avons, en 1986, commencé des recherches pour caractériser les sous-espèces et souches de *T p parva* en analysant les différences protéiniques des schizontes par électrophorèse à deux dimensions sur gélose. Nous avons d'abord mis au point une technique pour purifier les schizontes de *Theileria* des cellules lymphoïdes infectées, en traitant à aérolysine les cellules parasitées. Les schizontes ainsi purifiés étaient pratiquement exempts d'éléments dus aux cellules de l'hôte, et nous ont paru intacts quand nous les avons examinés, tant par microscopie optique que par microscopie électronique (figure 2). Ils nous ont bien semblé, d'autre part, garder leur pouvoir antigénique. Quand nous avons comparé le profil électrophorétique des schizontes purifiés et celui des cellules lymphoïdes, les unes infectées, les autres non infectées, nous n'avons trouvé aucune des protéines des schizontes dans les cellules non infectées. Quand nous avons comparé les schizontes purifiés de différentes souches de *Theileria*, nous avons trouvé dans toutes les souches les mêmes protéines principales, mais nous avons décelé des différences mineures. Les schizontes de *T p parva* Muguga qui provenaient de deux lignées différentes avaient un profil identique. Nous vérifions maintenant si ces résultats peuvent se reproduire quand il s'agit de plusieurs souches représentatives de *Theileria* et de différentes lignées de cellules lymphoïdes.

Il y a aussi une protéine que nous avons identifiée dans des cellules lymphoïdes infectées, mais qui était absente des cellules non infectées et des schizontes purifiés. Nous comptons travailler à caractériser cette protéine, qui semble bien être spécifique des cellules infectées. Ce qui rendrait cette protéine intéressante, c'est que les réactions immunitaires de protection des animaux infectés par *Theileria* visent, à ce qui nous paraît, l'antigène superficiel (ou les antigènes superficiels) dont la présence est spécifique des cellules infectées.

#### Obtenir des clones de *Theileria*

Il est facile d'infecter avec des sporozoïtes de *Theileria* des cellules lymphoïdes prélevées sur des bovins domestiques ou des buffles, et des lignées de cellules clonées qu'on élève *in vitro*. Mais les schizontes qu'il y a dans ces cellules ne sont pas forcément des populations homogènes, parce que telle ou telle cellule de l'hôte peut avoir, au moment de son infection, reçu plus d'un sporozoïte. Nous avons d'autre part pu infecter des bovins avec succès au moyen de sporozoïtes dérivés d'un seul acinus prélevé sur une seule tique infectée. On ne peut pourtant pas affirmer que les theilérias tirées de ces animaux seront homogènes, car rien ne prouve que l'infection d'un acinus de glande salivaire de tique ne puisse être due qu'à un seul kinète de *Theileria*.

Il reste donc nécessaire, et même urgent, d'obtenir des clones de *Theileria* qui proviennent sans aucun doute d'un seul individu. Sans theilérias clonées, il est impossible d'obtenir des résultats décisifs quant à la caractérisation des lignées ou à toute une série d'autres problèmes que posent nos recherches sur la theilériose. Pour obtenir des stabilats de sporozoïtes faits de populations plus homogènes—à défaut d'être clonées—, nous employons de petits nombres de sporozoïtes, obtenus par titrage, pour infecter des cellules lymphoïdes de bovins. Nous purifions ensuite ces parasites en clonant ces cellules lymphoïdes

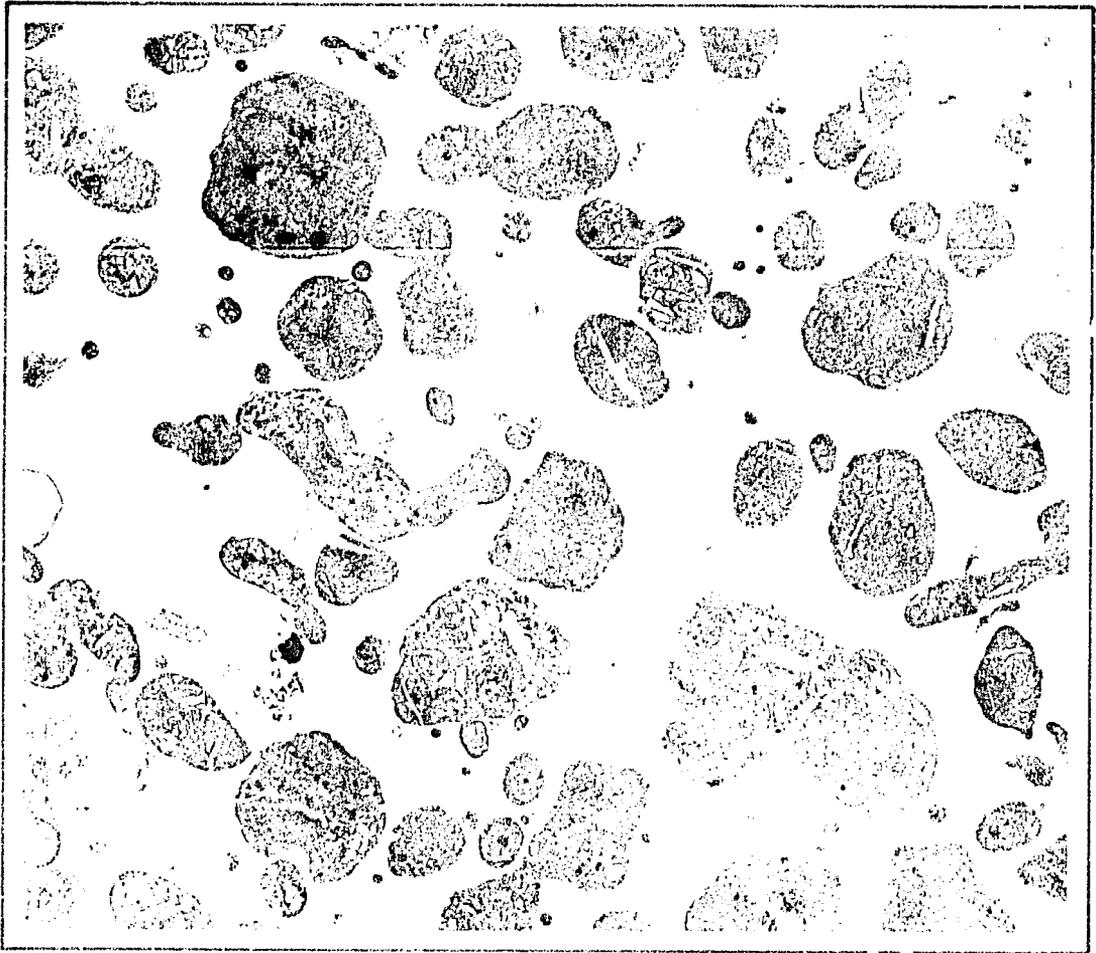


Figure 2 Micrographie électronique de schizontes que nous avons purifiés à partir de lymphocytes infectés, en traitant ces lymphocytes à l'aerolysine et en séparant les theileries des cellules lysées de l'hôte par centrifugation discontinue à gradient de densité. Les fractions de schizontes qu'on obtient ainsi ne comportent pratiquement rien des cellules de l'hôte; les schizontes paraissent intacts, et leur infrastructure paraît normale

par dilution limitatrice. L'étape suivante consistera à nous servir des ces cellules pour infecter des bovins. Il s'agira d'obtenir des populations relativement homogènes de sporozoïtes à partir de tiques qui auront piqué ces bovins-là. Nous comptons d'autre part reprendre, pour arriver à cloner, le procédé qui consiste à infecter des tiques avec un seul kinète.

Nous nous sommes surtout préoccupés, en 1986, d'infecter des bêtes avec des lym-

phocytes infectés par *Theileria* obtenus par clonage. Il est facile d'infecter des bovins domestiques avec des lignées de cellules lymphoïdes infectées par *T parva* mais non clonées; en revanche, ces expériences nous ont appris qu'il est plus difficile de les infecter avec des lignées de cellules qu'on a clonées deux ou trois fois *in vitro*. Les bovins auxquels nous avons inoculé des cellules lymphoïdes clonées, infectées par *T parva* Muguga ou par une lignée de cellules, infec-

tées par *Theileria*, qui provenaient d'un buffle, ont manifesté une réaction antismatique positive aux antigènes des schizontes ou des piroplasmes, mais aucun d'entre eux n'a fait de l'infection clinique ou une parasitémie visible. Deux bêtes auxquelles nous avons inoculé une différente lignée de cellules, prélevée sur le même buffle, ont fait une infection clinique, et nous avons constaté des schizontes de *Theileria* dans leurs ganglions lymphatiques et dans leur sang. Mais les tiques qui ont piqué ces bêtes n'ont pas formé de sporozoïtes que nous ayons pu déceler, et elles n'ont pas transmis l'infection à d'autres animaux.

Profils dus aux anticorps monoclonaux: *T p lawrencei* et *T p bovis*

Pour caractériser *in vitro* les souches de *Theileria*, notre principal procédé a été de faire reconnaître les antigènes des schizontes par des anticorps monoclonaux spécifiques. Nous produisons ces anticorps monoclonaux au moyen de cellules hybrides formées par 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 multiplier *in vitro*. A elles seules, les réactions des anticorps monoclonaux ne suffisent sans doute pas à faire classer les isolats de *Theileria* en groupes interprotecteurs *in vivo*; pourtant, cette technique reste la plus employée pour caractériser les isolats de *Theileria*. Nous nous sommes servis de notre batterie d'anticorps monoclonaux contre *Theileria*, en 1986, pour caractériser plus de 40 lignées de cellules lymphoïdes bovines, clonées ou non clonées, infectées par *T parva* Muguga ou *T parva* Marikébuni.

*T p lawrencei*, la sous-espèce de *Theileria* que portent presque toujours les buffles sauvages, cause une forte mortalité chez les bovins domestiques. Il ressort de plusieurs études que les bovins qui entrent en contact avec des buffles s'exposent à un grand nombre de différentes lignées de *Theileria*. C'est pourquoi on se sert de plus en plus des anticorps monoclonaux antitheilériens pro-

duits à l'ILRAD pour caractériser les theilériens trouvés sur des buffles. En collaboration avec l'Institut kényen de recherche agricole et le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire, nous avons, en 1986, caractérisé des isolats prélevés—à des intervalles—sur sept buffles captifs infectés naturellement. Nous avons infecté des bovins avec des sporozoïtes prélevés sur des tiques qui avaient piqué—à différents moments—les buffles en question, et nous avons caractérisé aussi les isolats de *Theileria* prélevés sur ces animaux. Les résultats de cette expérience confirment des observations antérieures, d'où il ressortait qu'il y a une forte diversité antigénique parmi les isolats pris sur différents buffles d'un même endroit, et même parmi différents isolats prélevés sur le même buffle à des intervalles d'une semaine ou d'un mois.

Nous nous sommes beaucoup intéressés aux theilériens isolés au Zimbabwe, parasites qui causent, semble-t-il, des infections bénignes chez les bovins domestiques. On les groupe sous le nom subsppécifique de *T p bovis*. Nous avons examiné si cette sous-espèce ne pourrait pas servir très utilement à l'immunisation (lignée de l'isolat de Boléni). Nous avons caractérisé à l'ILRAD 14 lignées de cellules infectées isolées au Zimbabwe, en employant pour cela nos anticorps monoclonaux. Ces isolats provenaient de bovins infectés; on les avait prélevés au cours de l'étude épidémiologique dirigée par le Laboratoire zimbabwéen de recherche vétérinaire, avec l'appui de la FAO. Le profil que les anticorps monoclonaux ont tracé de deux de ces isolats était similaire à celui des isolats de *T taurotragi* du Kenya; celui de tous les autres était semblable à celui de *T p parva*. Il y avait une grande diversité antigénique entre ces isolats, même quand ils venaient de bovins de la même station, et il semble bien qu'il y avait des infections mixtes dans des isolats pris au même sujet. Au total, il n'y avait pas, à notre avis, un profil spécifique, tracé par les anticorps monoclonaux, qu'on pourrait considérer comme caractéristique du type *T p bovis*.

## IMMUNISATION PAR INFECTION PLUS TRAITEMENT

En collaboration avec le Gouvernement tanzanien, la FAO et un *Development Project* de l'Irlande, l'ILRAD réalise dans les îles de Zanzibar et Pemba (Tanzanie) une opération d'immunisation contre la FCO. Nous avons pris dans l'une et l'autre îles deux isolats de *T parva*, et nous les avons caractérisés à l'ILRAD pour savoir s'ils conviendraient à des essais d'immunisation par infection plus traitement.

Nous avons trouvé que deux isolats—un pour chaque île—étaient pathogènes et causaient une sévère FCO. En immunisant des sujets avec des souches dérivées de ces deux isolats (*T parva* Zanzibar sud et *T parva* Pemba Mnarani), nous les avons protégés contre deux souches pathogènes qui provenaient de la province kényenne de la Côte: Mariakani et Marikébuni. Le criblage au moyen d'anticorps monoclonaux nous a appris que ces deux souches de Zanzibar étaient antigéniquement distinctes et donnaient à penser que la souche Pemba Mnarani était elle-même hétérogène. On peut maîtriser l'infection produite par ces souches au moyen d'une oxytétracycline à effet prolongé (Terramycine LA), et le résultat semble bien être une immunité sans danger, effective et d'une large portée. Nous nous servons maintenant de ces deux souches pour des essais d'immunisation dans les deux îles en question.

Nous avons fini, en collaboration avec le Laboratoire zimbabwéen de recherche vétérinaire et la FAO, de caractériser les theilérias isolées au Zimbabwe (*T parva*). On a commencé en octobre 1986 à faire des essais d'immunisation avec ces souches-là; les sujets immunisés devaient subir l'attaque de la maladie sur le terrain à la saison des pluies qui commencerait en décembre.

### Améliorer l'infection immunisante

Presque tous les buffles du Kenya sont porteurs, à ce qu'il semble, de *T p lawrencei*; pourtant on a très peu employé cette sous-

espèce dans les essais d'immunisation par infection plus traitement. En collaboration avec le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire et l'Institut kényen de recherche agricole, nous avons préparé et contrôlé des stabilats de cette sous-espèce qui provenaient de tiques nourries sur des buffles captifs. Il s'agissait de buffles infectés capturés en deux endroits fort éloignés l'un de l'autre: à la station d'OI Pèjéta, non loin de Nanyuki, et dans la Transmara.

Nous contrôlons actuellement ces stabilats à différents degrés de dilution, et nous employons différents produits dans ce régime d'infection plus traitement. Nous nous servons de ces stabilats dérivés des buffles pour produire expérimentalement l'immunité chez des bovins domestiques qui sont exposés à *T p parva* et à *T p lawrencei* dans les deux endroits où l'on avait capturé les deux buffles.

### Améliorer le traitement immunisant

On emploie beaucoup l'oxytétracycline dans les essais d'immunisation contre la FCO; pourtant nous ne comprenons pas encore très bien comment agit ce produit. Dans ce domaine, nos recherches ont pour but d'améliorer l'efficacité de l'emploi du produit dans l'immunisation par infection plus traitement, et aussi de laisser prévoir dans quelles situations le produit risque de ne pas être efficace.

Les études *in vitro* nous ont appris que l'oxytétracycline ralentit la croissance des cellules infectées, aussi bien dans les débuts de l'infection qu'une fois que l'infection est bien installée. Nous avons d'autre part constaté que la prolifération s'arrête dans des cellules lymphoïdes non infectées stimulées par un mitogène, la concanavaline A. Dans les 24 heures du traitement à l'oxytétracycline, nous avons décelé un effet sur la synthèse des protéines mitochondriales des lymphocytes. C'est peut-être ce phénomène qui empêche le développement de la theiléria et son installation dans la cellule infectée.

## ANTIGENES DES SPOROZOITES ET REACTIONS IMMUNITAIRES

Les animaux qui survivent là où la FCO est endémique ont acquis, à ce qu'il semble bien, une certaine immunité contre les theilérias. On a constaté que le sérum des bovins de ces endroits contient des anticorps qui neutralisent *in vitro* les sporozoïtes de *Theileria*, ce qui peut conférer une protection contre l'infection. La seconde des principales de nos recherches sur la theilériose concerne la possibilité de trouver un procédé d'immunisation qui consisterait à susciter des réactions de l'hôte contre les sporozoïtes. Le principal objectif est ici de savoir de façon certaine s'il y a en fait des réactions de protection contre les sporozoïtes de *Theileria*, et dans ce cas comment on pourrait les exploiter pour le plus grand profit des bovins en danger.

Les études antérieures nous avaient appris que les anticorps produits contre les sporozoïtes d'une lignée de *Tp parva* reconnaissent les sporozoïtes d'autres lignées de *Tp parva*, et aussi ceux de lignées de *Tp lawrencei* qui sont passées par des bovins domestiques. Cela donnait à penser que des anticorps ant sporozoïtes pourraient procurer une large protection contre la FCO sur une grande superficie. Nous avons fait des expériences, en 1986, pour compléter ces résultats, en nous servant d'une lignée de *Tp lawrencei* qui provenait directement d'un buffle. Nous avons pu constater que le sérum de bovins ou de lapins immunisés contre *Tp parva* neutralisait *in vitro* les sporozoïtes de cette lignée de *Tp lawrencei*, et que le sérum de lapins immunisés contre *Tp lawrencei* (de cette lignée) neutralisait les sporozoïtes de *Tp parva*. D'autres expériences nous ont montré que l'antisérum contre l'une ou l'autre de ces deux sous-espèces reconnaissait un certain nombre d'antigènes sporozoïtiques pareils ou similaires. Un antigène de 67.000 daltons était

prédominant sur les sporozoïtes de ces deux sous-espèces. Nous avons d'autre part constaté que les anticorps produits contre cet antigène neutralisent *in vitro* les sporozoïtes de *Theileria*.

Nous cherchons maintenant de façon très active à produire *in vitro* cet antigène de 67.000 daltons, pour voir s'il pourrait susciter chez les bovins une réaction immunitaire de protection. L'analyse biochimique nous a appris qu'il s'agit d'une glycoprotéine (un composé de protéine et d'hydrate de carbone), dont c'est apparemment la partie protéinique qui provoque les réactions antismatiques. Nous avons obtenu une séquence partielle des acides aminés de cette protéine, et nous travaillons surtout maintenant à fabriquer, d'après cette séquence, des peptides synthétiques pour immuniser des bovins expérimentalement. Nous associons ces peptides synthétiques à diverses protéines porteuses pour voir si elles peuvent provoquer chez les bovins des anticorps neutralisants contre les sporozoïtes. Ce travail se poursuit en collaboration avec le Wistar Institute des Etats-Unis.

Les chercheurs de cet Institut, en procédant différemment, se sont servis de la séquence partielle d'acides aminés de cette protéine de 67.000 daltons pour synthétiser plusieurs oligonucléotides, des séquences d'ADN qui seraient éventuellement capables de coder certains parties de la protéine. Elles servent actuellement de sondes pour cribler l'ADN total de *Theileria* et les collections d'ADN, et déterminer ainsi le gène qui code l'élément protéinique de l'antigène en question. Une fois ce gène identifié, nous pourrions l'insérer dans un vecteur d'expression, pour produire des protéines de fusion qui contiendraient l'antigène pertinent, protéines qu'on essaiera sur des bovins.

En cherchant à identifier les gènes qui codent les antigènes des sporozoïtes, nous avons criblé, avec l'antisérum de bovins immunisés, notre collection d'ADN génomique coupé de *Tp parva* Muguga. Nous avons identifié ainsi cinq clones qui codent la protéine de 67.000 daltons.

Nous cherchons d'autres séquences génétiques qui codent plusieurs autres antigènes sporozoïtiques que reconnaissent les bovins immuns. Le résultat de cette recherche pourrait non seulement nous aider à trouver un vaccin du côté des sporozoïtes, mais aussi à identifier des séquences utiles pour caractériser les espèces et lignées de *Theileria*.

## INVASION DES CELLULES DE L'HÔTE PAR LES SPOROZOÏTES

Au titre de nos recherches sur les sporozoïtes, nous étudions comment les sporozoïtes se lient aux cellules de leur hôte, dans l'espoir de pouvoir un jour intervenir dans ce phénomène pour bloquer l'infection. Nous nous sommes aussi intéressés à la façon dont des sporozoïtes irradiés s'attachent aux cellules de l'hôte et les envahissent.

Les sporozoïtes de différentes lignées de *Theileria* s'attachent, selon nos observations, aux mêmes molécules réceptrices des lymphocytes bovins, ce qui donne à penser que les theilérias se lient aux cellules de l'hôte selon un dispositif commun récepteur/ligand. D'après nos études, les molécules réceptrices situées sur les cellules de l'hôte sont une glycoprotéine dont les sporozoïtes se servent pour reconnaître, s'attacher et envahir.

Nous avons produit des anticorps monoclonaux qui, *in vitro*, empêchent les sporozoïtes d'envahir les cellules bovines. Ces anticorps, à ce qu'il semble bien, reconnaissent une molécule de 44.000 daltons à la surface de diverses populations de lymphocytes bovins. Un de ces anticorps bloqueurs reconnaît aussi une molécule de 200.000 daltons. Quand nous avons traité avec cet anticorps des cellules auparavant mises en incubation avec des concentrations saturantes de sporozoïtes, il a reconnu la molé-

cule de 44.000 daltons, mais non celle de 200.000. Ce qui donne à penser que l'élément de 200.000 daltons de la molécule réceptrice, à la surface des cellules bovines, se clive peut-être pendant que la theiléria s'attache.

Les premières recherches sur les effets de l'irradiation sur les sporozoïtes de *T parva* nous ont appris qu'atténués par l'irradiation, les sporozoïtes suscitent diverses réactions chez les bovins. Cette diversité nous avait fait craindre que les sporozoïtes irradiés ne soient pas un bon point de départ pour un vaccin à large effet contre la FCO. Mais ces études n'avaient pas examiné en détail les changements structuraux qui ont lieu quand les sporozoïtes irradiés pénètrent dans les cellules bovines qu'ils visaient, ni les réactions immunitaires que les sporozoïtes irradiés suscitent chez les bovins infectés.

On a récemment constaté que les sporozoïtes de *T parva* ont une phase, dans la tique vectrice, où ils sont sensibles à l'irradiation; cette constatation a ravivé l'intérêt pour la possibilité d'immuniser les bovins avec des sporozoïtes irradiés. Nos expériences de 1986 nous ont appris que les sporozoïtes irradiés s'attachent aux lymphocytes bovins, *in vitro*, aussi efficacement que les sporozoïtes normaux, ce qui veut dire, semble-t-il, que l'irradiation n'affecte pas la molécule liante qu'il y a à la surface du sporozoïte. L'irradiation n'empêche pas les sporozoïtes de pénétrer dans les lymphocytes, mais très peu de ces sporozoïtes irradiés arrivent à devenir des schizontes.

Nous étendons actuellement ces études à l'examen de l'ultrastructure des schizontes qui proviennent de sporozoïtes irradiés; nous voulons savoir si ces schizontes sont capables d'inciter les lymphocytes bovins à proliférer. Nous prélevons d'autre part des lymphocytes bovins, les infectons *in vitro* avec des sporozoïtes irradiés, et re-inoculons ces cellules infectées à l'animal dont elles venaient, pour voir si elles vont déclencher une infection et stimuler ainsi les réactions immunitaires.

## REACTIONS IMMUNITAIRES ET CELLULES INFECTÉES PAR DES SCHIZONTES

Le troisième des grands chapitres de nos recherches sur la theilériose est celui qui concerne la phase des schizontes, dans le cycle vital des theilérias. Nous savons que les bovins qui ont acquis l'immunité à l'égard de la FCO produisent des lymphocytes cytolytiques (tueurs de cellules), lymphocytes qui tuent les cellules qu'infectent des schizontes de *Theileria*. Ces cellules tueuses, selon nous, reconnaissent, à la surface des cellules infectées, un antigène provoqué par les schizontes. En revanche, les bovins sensibles qui souffrent d'une FCO aiguë produisent des cellules cytolytiques capables de tuer les cellules non infectées comme les cellules infectées. Ces cellules tueuses jouent probablement un grand rôle dans la destruction du système immunitaire, trait caractéristique de la maladie.

L'immunité que confère aux bovins la méthode «infection plus traitement» est peut-être due surtout aux réactions cytolytiques contre les cellules infectées par des schizontes. Ce à quoi nous voudrions arriver dans ce domaine, c'est mieux comprendre les réactions immunitaires d'origine cellulaire, ainsi que les changements antigéniques, suscités par les schizontes, qui déclenchent ces réactions. Mieux comprendre les réactions immunitaires des bovins pourrait éventuellement nous amener à trouver de meilleures méthodes d'immunisation contre la FCO; mais cela pourrait aussi nous apprendre à mieux combattre d'autres maladies.

### CARACTERISER LES TYPES DE CELLULES BOVINES

Pour comprendre les réactions immunitaires des bovins, il importe de pouvoir identifier différentes sortes de cellules bovines qui

jouent un rôle dans l'immunité. Nous avons fait grand usage des réactifs dont nous disposons à l'ILRAD pour étudier les sortes de cellule que *T parva* infecte, pour définir les cellules dont dépendent les réactions immunitaires à *Theileria*, et pour distinguer divers sous-ensembles de cellules de façon à voir les fonctions de chacun.

On peut dire en gros que les bovins et les autres mammifères ont deux sortes de réaction immunitaire: la réaction antismatique et la réaction cellulaire, qui ont pour agents différentes sortes de lymphocytes. C'est des lymphocytes B que relèvent les réactions antismatiques contre les sporozoïtes de *Theileria*, et c'est des lymphocytes T, qui mûrissent dans le thymus, que relèvent les réactions cellulaires d'immunité contre les cellules infectées par des schizontes. Les lymphocytes T reconnaissent les antigènes étrangers entrés en combinaison avec des molécules de la surface des cellules de l'animal lui-même, molécules qu'on appelle le «complexe majeure d'histocompatibilité» (CMH). Divers individus de la même espèce n'ont pas forcément les mêmes CMH. C'est pourquoi, d'une façon générale, les lymphocytes T ne reconnaissent que les antigènes qui se présentent sur des cellules du même animal, ou d'un animal autre, mais qui a un CMH pareil. C'est ce qu'on appelle la restriction par CMH.

Il y a deux sortes principales de molécules du CMH, celles de classe I et celles de classe II, sortes qui ont des caractéristiques biochimiques et fonctionnelles différentes. De ce fait, on peut subdiviser les lymphocytes T en lymphocytes qui reconnaissent les antigènes étrangers combinés à des molécules du CMH de classe I (restreints par classe I), et en lymphocytes qui les reconnaissent quand ils sont combinés à des molécules du CMH de classe II (restreints par classe II). Ces deux sous-populations de lymphocytes T ont en général des fonctions immunologiques différentes.

Nous avons continué, en 1986, à chercher des marqueurs antigéniques qui pourraient

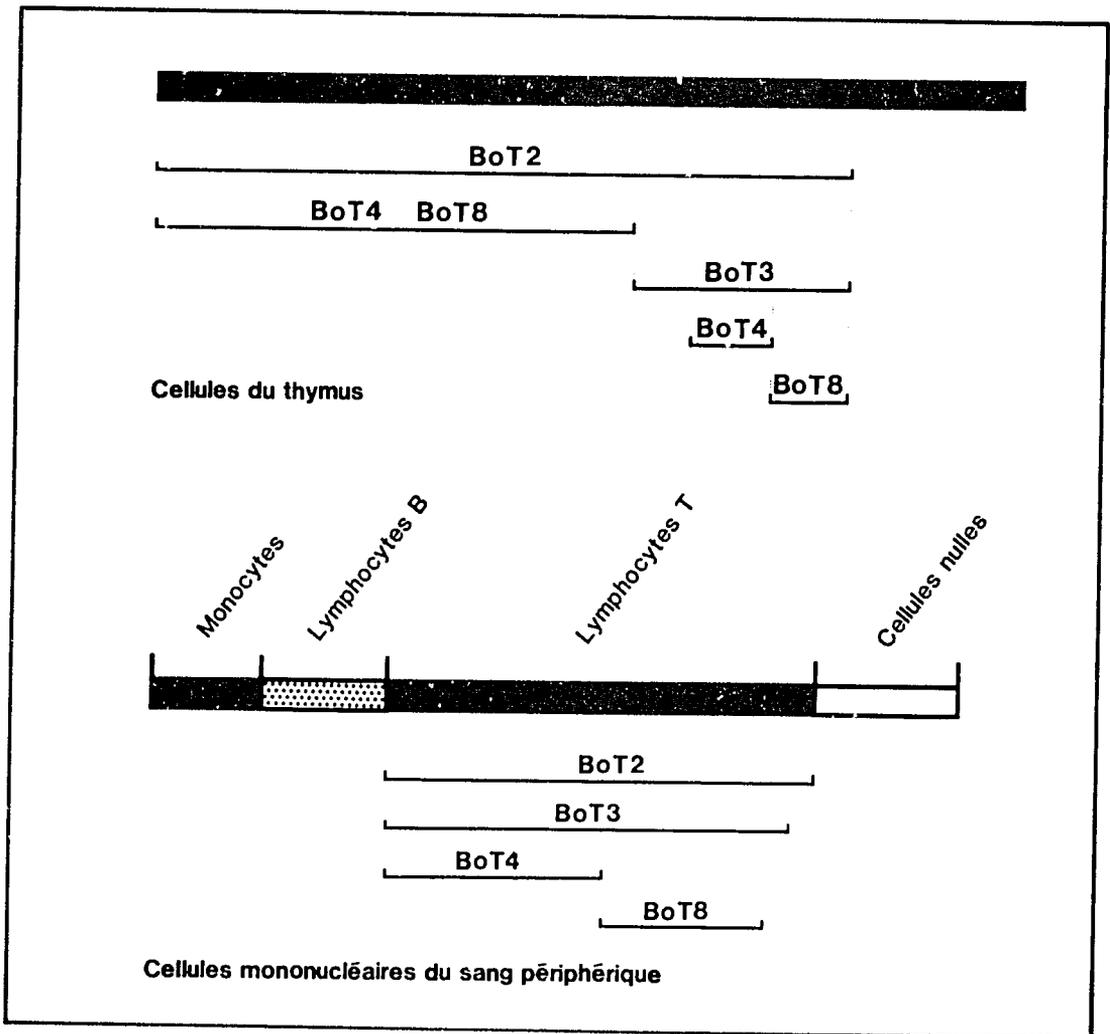


Figure 3. Diagrammes schématiques des populations de lymphocytes T dans le thymus et dans le courant sanguin, avec la répartition des populations de cellules que reconnaissent les anticorps monoclonaux produits à l'ILRAD.

servir à améliorer la définition d'importantes sous-populations de lymphocytes T et d'autres sortes de cellules qui jouent un rôle dans l'immunité. Nous avons produit plusieurs anticorps monoclonaux qui réagissent à la plupart des lymphocytes T. Il y en a deux groupes. Un de ces deux groupes réagit à environ 80% de tous les lymphocytes du thymus, qu'ils soient arrivés ou non à maturité. Ces anticorps reconnaissent des molécules de 55.000 daltons à la surface des cellules; nous les avons appelées, ces

molécules, BoT2, parce que leurs propriétés sont analogues à celles des molécules CD2 qu'il y a à la surface des lymphocytes T des êtres humains. L'autre groupe d'anticorps monoclonaux ne réagissent qu'aux lymphocytes T, arrivés à maturité, qui se trouvent dans la médulla du thymus. Nous n'avons pas encore pu identifier la molécule (ou les molécules) qu'ils reconnaissent, mais, quand nous traitons avec ces anticorps, *in vitro*, des lymphocytes T au repos, cela incite les lymphocytes à proliférer. Ce qui nous porte

à croire que la molécule que les anticorps reconnaissent serait analogue à la molécule CD3 qui se trouve sur les lymphocytes T des êtres humains; nous appelons donc cette molécule bovine—sous toutes réserves—BoT3.

Plusieurs autres anticorps monoclonaux définissent deux grandes sous-populations de lymphocytes T arrivés à maturité, qu'on trouve dans le courant sanguin et dans les tissus lymphoïdes périphériques. Nous appelons BoT4 et BoT8 les molécules que ces anticorps visent sur ces sous-ensembles de lymphocytes T, à cause de leur analogie avec les molécules CD4 et CD8 des êtres humains. A la différence des lymphocytes T arrivés à maturité, une population de ces cellules, non arrivées à maturité, qu'il y a dans le thymus porte à la fois des molécules BoT4 et des molécules BoT8. En colorant ces lymphocytes thymiques par immunofluorescence en deux couleurs, tout en colorant des sections de tissus, nous avons constaté que la majorité de ces cellules non arrivées à maturité se trouve dans le cortex du thymus. Nous décelons aussi dans le thymus et dans le courant sanguin d'autres populations, moins nombreuses, de lymphocytes T qui n'expriment ni BoT4 ni BoT8 (figure 3).

En étudiant longuement des lymphocytes T, clonés ou non, nous avons constaté que les cellules bovines qui portent la molécule BoT4 sont les lymphocytes T qui reconnaissent un antigène étranger sur les cellules qui portent cet antigène en présence de molécules du CMH de classe II, tandis que les lymphocytes qui ont la molécule BoT8 reconnaissent l'antigène en présence de molécules du CMH de classe I. En analysant les fonctions de ces cellules, nous avons compris que les lymphocytes T qui portent la molécule BoT4 jouent le rôle d'auxiliaires, et que ceux qui ont la molécule BoT8 sont les cellules tueuses; les lymphocytes à BoT4 produisent des facteurs solubles de croissance qui rendent les lymphocytes à BoT8 capables de proliférer et d'assumer une fonction cytolytique.

Nous nous sommes servis de ces réactifs,

en 1986, pour chercher quelles sortes de cellule sont attaquées quand des theilérias infectent les animaux. Nous avons pu constater que la majorité des cellules parasitées sont des lymphocytes T. Parmi les lymphocytes T périphériques normaux, les molécules BoT4 et les molécules BoT8 s'expriment sur des populations séparées; mais, chez les animaux infectés, de 10 à 20% de tous les lymphocytes T expriment les deux sortes (figure 4), et, parmi les cellules parasitées, la proportion de celles qui expriment les deux sortes est notablement plus forte. Il ressort de nos études *in vitro* que certains des lymphocytes T qui n'exprimaient à l'origine que la molécule BoT4 acquéraient la molécule BoT8 quand on les infectait avec *T parva*. On peut, *in vitro*, infecter avec *T parva* différentes sous-populations de lymphocytes T, mais ces constatations donnent à penser que, *in vivo*, un important élément de la population infectée provient de cellules qui exprimaient à l'origine la molécule BoT4. Il se peut que la forte augmentation des cellules parasitées qui expriment les deux molécules reflète leur degré d'activation.

Nous cherchons d'autre part à avoir des anticorps monoclonaux qui pourraient servir à identifier les lymphocytes B des bovins à leurs divers degrés de maturation. Nous avons obtenu en 1986 un anticorps qui reconnaissait spécifiquement un déterminant monomorphique sur l'immunoglobuline (IgM) des cellules B arrivées à maturité. Nous en avons obtenu un autre qui réagissait à une petite population de lymphocytes qui n'a pas de marqueurs de cellules B ou de cellules T. Nous avons trouvé ces cellules nulles dans les tissus lymphoïdes périphériques et dans la médulla du thymus. *In vitro*, dans les réactions mixtes de leucocytes, les cellules nulles proliféraient, à ce qu'il semble en réaction aux antigènes du CMH de classe II qui provenaient du même animal. D'autres études nous donnent à penser que ces cellules pourraient jouer un rôle dans l'activité cytolytique non spécifique qui caractérise les formes mortelles de la FCO.

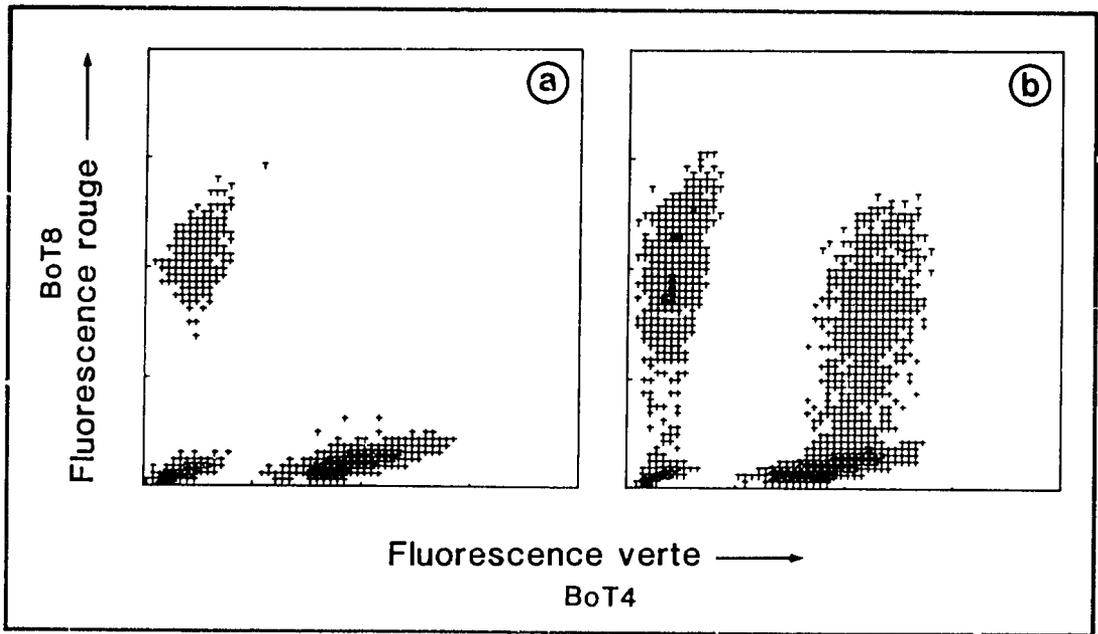


Figure 4. Profils, par groupement de points fluorescents, des lymphocytes analysés par le trieur de cellules, activé par fluorescence, dont dispose l'ILRAD. Nous avons coloré les préparations (immunofluorescence en deux couleurs) avec des anticorps monoclonaux, spécifiques l'un de la molécule BoT4, l'autre de la molécule BoT8. (a) Dans une population de lymphocytes qui provient d'un animal normal non infecté, la plupart des lymphocytes T montrent ou bien la molécule BoT8 (le long de l'axe verticale, à gauche), ou bien la molécule BoT4 (le long de l'axe horizontal, en bas). (b) Dans une population de lymphocytes qui provient d'un animal infecté par *T. p. parva*, beaucoup de lymphocytes T montrent à la fois les deux molécules (verticalement depuis le milieu de l'axe horizontal). Une grande proportion de ces lymphocytes bipoitifs est parasitée.

Nous allons maintenant approfondir ces recherches, pour élucider le rôle de ces cellules dans les réactions immunitaires à l'infection par *Theileria*.

Nous avons obtenu deux anticorps monoclonaux qui réagissaient à la majorité des macrophages et des granulocytes, y compris les macrophages non arrivés à maturité (les monocytes) de la moëlle. Nous nous sommes servis de ces anticorps pour identifier les macrophages dans des populations de cellules dont nous avons retiré les granulocytes. Après plusieurs expériences, nous avons constaté que l'un de ces anticorps empêchait la prolifération, sous l'influence d'un antigène, des lymphocytes T, en intervenant dans la production ou la présentation de l'antigène; ce qui semble vouloir dire que la molécule que reconnaît cet anticorps a un

rôle régulateur à l'égard de la présentation d'antigènes par des macrophages. Nous avons obtenu deux autres anticorps monoclonaux qui réagissaient aux monocytes/macrophages. L'un réagissait à une proportion variable de monocytes et de macrophages arrivés à maturité; l'autre réagissait spécifiquement, semble-t-il, aux macrophages pulmonaires.

Enfin, nous avons obtenu un anticorps monoclonal qui réagissait: dans le thymus, avec les lymphocytes T non arrivés à maturité; dans les tissus lymphoïdes périphériques, avec les cellules interdigitées/dendritiques; dans la lymphe afférente, avec une certaine proportion des grandes cellules semblables aux macrophages. Nous organisons de nouvelles expériences pour examiner les fonctions de ces cellules accessoires.

## CLASSEMENT DES TYPES DE CMH

Etant donné le grand rôle que les antigènes du CMH jouent dans les réactions immunitaires, nous cherchons activement à caractériser les antigènes du CMH chez les bovins boran qui servent à nos recherches. Nous en définissons le type d'après leurs antigènes du CMH de classe I, au moyen d'une batterie d'antisérums et d'anticorps monoclonaux. Ce classement nous permet de choisir les bêtes qui conviennent, tant pour l'expérimentation que pour les groupes de reproducteurs destinés à produire des descendants qui auront le type voulu de CMH.

Nous avons, en 1986, mis au point un système de contrôle automatique par fluorescence qui peut servir à classer les cellules bovines selon leurs antigènes du CMH: classe I ou classe II. Nous avons rendu complètement automatiques tant la lecture microscopique de l'épreuve que l'analyse de ses résultats: les résultats sont rapides et très dignes de confiance. C'est en collaboration avec l'Université de Strathelyde (Grande-Bretagne) que nous avons composé les programmes d'ordinateur qui permettent de lire les données et de les analyser; nous allons mettre ces programmes à la disposition de plusieurs laboratoires qui s'intéressent à la question.

Ce classement a joué un rôle dans notre recours au transfert d'embryons pour obtenir de tel ou tel couple de reproducteurs une nombreuse progéniture. Pour que les transferts d'embryons réussissent, nous avons amélioré au maximum le traitement hormonal de façon à synchroniser l'œstre de nos vaches (*Bos indicus*) et à les inciter à la suroovulation. Grâce à ces procédés, il nous est né en 1986 51 veaux, dans des groupes de CMH identique ou haplo-identique, pour des saillies simples, plus une paire de jumeaux identiques produite par une division d'embryon. Parmi les expériences auxquelles doivent servir ces bovins de CMH identique, produits par transfert d'embryons, il y a les efforts que nous allons faire pour essayer de conférer l'immunité en

transférant d'un sujet immunisé à un sujet indemne des lymphocytes T activés, spécifiques de *Theileria*.

Tous les réactifs antisomatiques dont on dispose actuellement pour définir les antigènes bovins polymorphiques du CMH réagissent aux molécules de classe I; la plupart—peut-être tous—réagissent aux produits d'un seul *locus* de gène de classe I. Il importe de pouvoir identifier tous les autres antigènes du CMH, pour définir leur rôle dans les réactions immunitaires et pour vérifier d'éventuelles influences, du fait du CMH, sur la sensibilité à la maladie. Pour élucider cette question, nous combinons plusieurs techniques.

Un de nos objectifs est de savoir combien il y a de *locus* génétiques dans la région du CMH qui est de classe I, et combien de ces *locus* ont des produits fonctionnels. Pour cela, nous produisons des lignées de cellules mutantes où nous avons détruit les gènes qui codent certaines molécules superficielles, en conservant les autres. Les mutantes qui résultent de cette opération, nous les criblons avec une grosse batterie d'anticorps monoclonaux et avec des lymphocytes T clonés qui reconnaissent tel ou tel antigène du CMH de classe I. Les réactifs qui reconnaîtraient l'antigène dans une lignée de cellules intactes réagiront peut-être, ou peut-être ne réagiront pas, aux lignées mutantes, selon que l'antigène qu'ils reconnaissent a ou non disparu. Si deux réactifs réagissent différemment à une lignée mutante donnée, c'est probablement qu'ils reconnaissent chacun un antigène différent.

On en sait moins au sujet des molécules du CMH de classe II, chez les bovins, qu'au sujet de celles de classe I. Un des empêchements a été qu'il est difficile d'obtenir des anticorps monoclonaux par les procédés classiques, ceux qui recourent aux cellules de souris. Pour résoudre cette difficulté, nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible d'obtenir des anticorps monoclonaux bovins au moyen de fusions hybrides murines-bovines ou bovines-bovines. Nos premiers efforts dans ce sens

n'ont pas eu de succès, mais nous recommençons à examiner maintenant cette possibilité, en collaboration avec l'Institut de physiologie animale du Agriculture and Food Research Council (Grande Bretagne).

Toujours du côté des lignées de cellules mutantes, nous nous sommes efforcés de produire des cellules mutantes qui n'expriment aucun antigène du CMH. Si nous y réussissions, cela rendrait plus efficaces et plus praticables nos procédés expérimentaux d'immunisation contre la FCO. Nous pouvons actuellement conférer l'immunité aux bovins en leur inoculant des cellules infectées de schizontes *in vitro*. Mais il nous faut employer un très grand nombre de ces cellules, parce que le sujet rejette beaucoup de ces cellules étrangères avant que les schizontes n'aient pu envahir son organisme. Ce sont les antigènes du CMH que portent ces cellules étrangères qui suscitent ce rejet; si nous pouvions employer des cellules parasitées dépourvues d'antigènes du CMH, il se perdrait beaucoup moins de cellules.

#### PROLIFERATION DES CELLULES INFECTÉES

Si nous comprenions bien comment les theilérias incitent à proliférer les cellules de leur hôte, nous arriverions peut-être à de nouvelles méthodes pour maîtriser l'infection ou pour réduire les sévères effets pathogènes de la FCO. Nos recherches de 1985 nous avaient appris que les lymphocytes T infectés par *Theileria* produisent un facteur de croissance analogue à l'interleukine 2 (IL-2), facteur de croissance des lymphocytes T, facteur qui contribue peut-être à maintenir l'état proliférant de ces lymphocytes. En 1986, nous nous sommes servis, pour localiser et isoler l'ADN génomique qui code l'IL-2 bovine, de la sonde qui sert pour l'ADN homologue qui code l'IL-2 humaine. Nous caractérisons cette sonde et l'employons, avec une sonde d'ADNe pour l'IL-2 humaine, pour définir ce facteur de croissance, analogue à l'interleukine, que produisent les lymphocytes T clonés qu'on a

infectés de *T parva*. Nous cherchons maintenant à produire des anticorps monoclonaux anti-interleukine et à nous en servir pour développer cette recherche.

Nous avons obtenu plusieurs anticorps monoclonaux capables de reconnaître les antigènes qu'on trouve spécifiquement sur les cellules bovines proliférantes, mais qu'on ne trouve pas ou qu'on ne trouve que très peu concentrés sur ces cellules au repos. Nous travaillons actuellement à élucider les fonctions de ces antigènes et leur biochimie. Certaines de leurs fonctions sont peut-être d'absorber davantage d'éléments nutritifs pour accélérer la croissance, ou de se lier à telle hormone ou tel facteur—comme IL-2—qui régit la croissance.

En collaboration avec le laboratoire du Kernforschungszentrum de Karlsruhe (Allemagne fédérale), nous étudions d'autre part l'idée qu'il y aurait peut-être des oncogènes qui joueraient un rôle dans le passage des lymphocytes parasités à un état proliférant. On sait que les oncogènes passent pour jouer un rôle dans la transformation et la croissance des cellules cancéreuses. Il ressort de nos constatations préliminaires qu'il y a des oncogènes transcrits et transférés dans les cellules infectées par *Theileria*, et qu'ils proviennent des cellules de l'hôte.

Quand des oncogènes incitent des cellules à se multiplier et à se transformer en tumeurs, les enzymes qu'on appelle protéine-kinases jouent, on l'a constaté, un certain rôle. Le phénomène que ces enzymes déclenchent est la phosphorylation: la structure moléculaire des protéines change parce que des phosphates s'y attachent. En comparant plusieurs populations clonées de lymphocytes T, les unes infectées de *Theileria*, les autres non, nous avons constaté que l'infection augmente très notablement la phosphorylation des protéines cellulaires de l'hôte. Le phénomène altère au moins cinq protéines. Nous cherchons actuellement à savoir si cette phosphorylation est due à l'activation d'une certaine enzyme dans la cellule de l'hôte, ou à la présence d'une certaine enzyme venue des theilérias. Nous tra-

vaillons aussi à caractériser les protéines cellulaires de l'hôte qui sont les cibles de la phosphorylation, et à repérer les gènes qui codent les protéine-kinases et les autres transformations.

#### VARIATIONS ANTIGENIQUES SUR LES CELLULES INFECTÉES

On a identifié des anticorps monoclonaux qui réagissent aux cellules proliférantes des bovins, mais on n'a pas produit d'antisérum ou d'anticorps monoclonal qui détecte les antigènes superficiels quand il s'agit spécifiquement de cellules infectées par des schizontes. Nous cherchons actuellement à trouver des méthodes indirectes pour identifier ces antigènes, au moyen de lymphocytes T spécifiques de *Theileria*, les uns clonés, les autres non clonés.

Nous avons constaté que les antigènes que nous avons tirés de cellules infectées de *Theileria* suscitaient prolifération de cultures cellulaires mixtes qui provenaient de bovins immuns. Il a fallu, pour cette réaction, la présence de leucocytes irradiés pris au même animal, ce qui donne à penser que ce sont des macrophages qui présentent les antigènes. Les cellules qui ont proliféré étaient presque toutes des lymphocytes T qui portaient l'antigène superficiel BoT4 et n'étaient pas des cellules tueuses. Une expérience préliminaire nous a appris que des schizontes purifiés par congélation et dégel suscitent eux aussi la prolifération.

Nous avons fractionné des cellules infectées de *Theileria* et avons employé ces fragments subcellulaires pour susciter la prolifération de cultures cellulaires mixtes. La prolifération a été forte avec des fractions microsomales qui comprenaient des membranes plasmiques, du réticulum endoplasmique rugueux et du Golgi. Nous travaillons actuellement à fractionner davantage ces préparations, en vue de repérer et d'identifier l'antigène ou les antigènes dont dépend spécifiquement la prolifération. Nous envisageons des expériences analogues pour découvrir les antigènes qui suscitent les réactions cytolytiques.

Quand nous aurons purifié les antigènes qui suscitent la prolifération ou la cytolysse, nous pourrons produire des anticorps spécifiques dont nous nous servirons pour cribler nos collections d'ADN de *Theileria* et découvrir ainsi les gènes correspondants. Si nous voulons savoir si tel ou tel des gènes de *Theileria* identifiés par ce procédé joue un rôle dans la stimulation de la réaction immunitaire, il faudra transfecter ces gènes dans des cellules non parasitées, porteuses des molécules bovines du CMH qui conviennent; il faudra ensuite nous servir de ces cellules comme source d'antigène pour le contrôle que nous avons en vue. Nous travaillons donc à l'heure actuelle à élaborer un système de transfection de gènes, et essayons pour cela diverses sortes de cellules bovines. Nous n'excluons pas une autre méthode, qui consisterait à transfecter un gène bovin du CMH de classe I dans une lignée de cellules de souris qui se prêterait à de nouvelles transfections.

Nous avons aussi une autre méthode pour identifier l'antigène ou les antigènes dont dépend l'immunité d'origine cellulaire; il s'agit d'identifier les gènes de *Theileria* spécifiques de l'étape schizonte du cycle vital du parasite. Nous nous servons pour cela d'anticorps monoclonaux spécifiques des schizontes et criblons avec ces anticorps une collection génomique d'ADN de *Theileria*.

#### REACTIONS IMMUNITAIRES AUX CELLULES INFECTÉES

Nous avons continué en 1986 à étudier les lymphocytes T cytolytiques qui tuent les cellules infectées de *Theileria*. Cette étude a confirmé que les cellules cytolytiques T spécifiques de *Theileria* expriment la molécule BoT8 et sont restreintes à des molécules du CMH de classe I. Les réactions cytolytiques correspondaient surtout à trois des six molécules de classe I que nous avons examinées, ce qui semble appeler la conclusion suivante: l'antigène que la theiléria suscite à la surface des cellules qu'elle infecte s'associerait de préférence à certaines molécules du

CMH, ou provoquerait plus efficacement la réaction immunitaire quand il rencontre certaines molécules du CMH plutôt que telles autres. Et cela pourrait être l'origine de différences, du fait du CMH, dans la sensibilité à l'infection ou dans la qualité de l'immunité conférée à différents animaux par la méthode infection plus traitement.

Nous avons, en collaboration avec le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire, élaboré un contrôle par dilution limitative pour vérifier la prolifération des lymphocytes T cytolytiques spécifiques de *Theileria* chez les bovins immunisés. Il ressort des données préliminaires que, dans une population de lymphocytes du sang périphérique, la fréquence des cellules cytolytiques était d'environ 1:5.000 chez les sujets immunisés, mais que cette fréquence n'était constatable qu'à partir de 1:100.000 chez les sujets indemnes.

Une autre de nos recherches concernait le rôle éventuel de la lymphotoxine—facteur cytolytique sécrété par les lymphocytes T—dans la destruction des cellules, destruction caractéristique des phases terminales de la theilériose. Il ressort des données préliminaires qu'aussi bien les lymphocytes infectés de *Theileria* que les clones de lymphocytes T stimulés par des cellules infectées de *Theileria* produisent de la lymphotoxine *in vitro*.

### Spécificité à l'égard des lignées

Pour savoir si la réaction cytolytique est spécifique de telle ou telle lignée de *Theileria*, nous avons examiné trois bovins immunisés contre *T p parva* Muguga par infection plus traitement, et attaqués ensuite avec la même souche, Muguga. Nous avons contrôlé, dans des cellules prises à ces trois bêtes, l'activité cytolytique à l'égard de lymphocytes T clonés pris aux mêmes bovins et infectés *in vitro* avec *T p parva* Muguga, ou *T p parva* Marikébuni. L'action cytolytique que nous avons constatée dans les cellules de deux de ces bêtes était complètement spécifique, à notre avis, des cellules infectées de *T p*

*parva* Muguga; les cellules de troisième animal étaient, de plus, un peu cytotoxiques contre les cellules infectées de *T p parva* Marikébuni. Cette constatation s'accorde avec ce que nous ont appris nos expériences d'interimmunité: une certaine proportion des animaux immunisés au moyen de *T p parva* Muguga sont sensibles à une infection par *T p parva* Marikébuni. Elle constitue aussi, cette constatation, la première preuve bien claire du caractère spécifique, à l'égard des lignées, des réactions cytolytiques *in vivo*.

Les expériences d'interimmunité nous ont appris que les bovins immunisés au moyen de la souche Marikébuni sont protégés contre l'infection, qu'il s'agisse de *T p parva* Marikébuni ou de *T p parva* Muguga. Nous avons, en 1986, tiré 16 clones de lymphocytes T cytolytiques, spécifiques de *Theileria*, d'un animal immunisé au moyen de *T p parva* Marikébuni. Tous ces clones ont tué les cellules infectées par l'une ou l'autre souche de *Theileria*; cependant, à la différence des lymphocytes cytolytiques obtenus contre la souche Muguga, ils ne tuaient en quatre heures que 15 à 70% des cellules parasitées (figure 5). Ce phénomène, joint à d'autres, donne à penser que l'antigène que reconnaissent les lymphocytes cytolytiques spécifiques de Marikébuni s'exprime de façon cyclique à la surface des cellules parasitées, et diffère probablement de l'antigène que reconnaissent les lymphocytes spécifiques de Muguga.

Nous nous proposons de mettre diverses populations clonées de lymphocytes T à l'épreuve sur une plus large gamme de souches de *Theileria*, pour savoir si leur spécificité est en corrélation avec les profils d'interprotection. Les lymphocytes T clonés qui reconnaissent telle ou telle lignée de *Theileria* pourraient devenir d'utiles réactifs pour caractériser les espèces ou lignées de *Theileria* avec plus de précision que ne permettent à l'heure actuelle les anticorps monoclonaux.

Cette recherche sur la spécificité des réactions cytolytiques à l'égard des lignées, nous allons d'autre part continuer à l'adresser aux

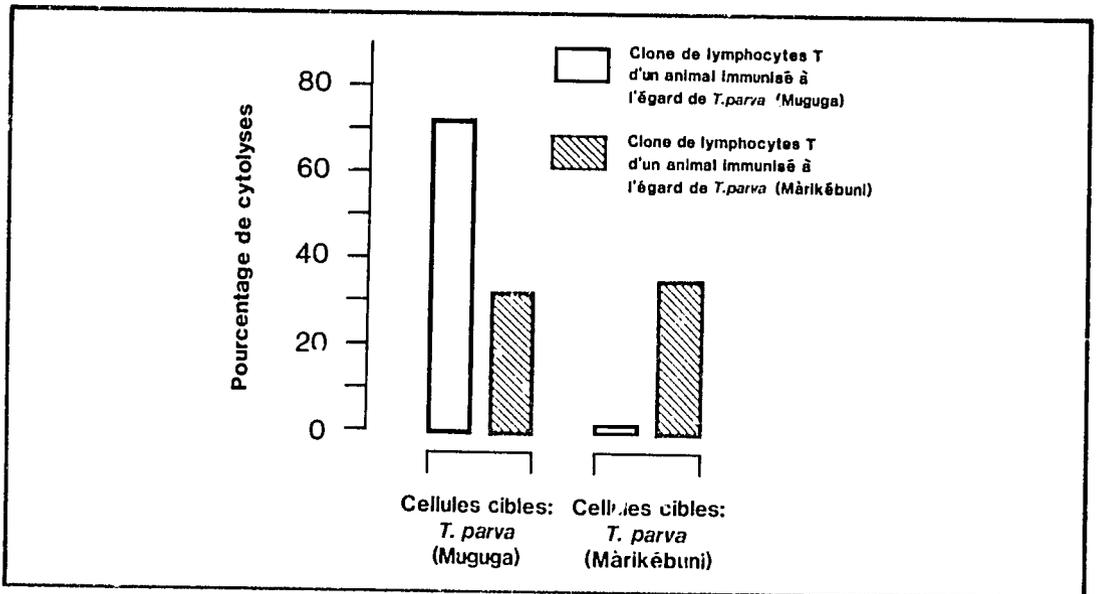


Figure 5. Spécificité (à l'égard des lignées de *Theileria parva*) de deux clones de lymphocytes T cytoytiques qui provenaient, l'un d'un animal immunisé contre *T p parva* (Muguga), l'autre d'un animal immunisé contre *T p parva* (Màrikébuni). On voit le pourcentage de cytolyse que nous avons obtenu en essayant les clones sur des lymphocytes du même animal, infectés *in vitro* avec des theileries de l'une ou l'autre lignée. Le clone qui vise *T p parva* (Muguga) est spécifique contre les cellules infectées avec la même lignée, tandis que le clone qui vise *T p parva* (Màrikébuni) tue les lymphocytes infectés avec l'une ou l'autre lignée.

cellules tirées des animaux immunisés. Nous préparons des expériences pour déterminer si la spécificité de la réaction cytolitique est en corrélation avec la sensibilité à une infection ultérieure. Il se peut que cette spécificité de la réaction corresponde à tel ou tel type de CMH; nous choisirons donc pour ces expériences des sujets dont le type de CMH est bien défini.

Comparaison avec les réactions immunitaires des buffles

Si nous comprenons bien comment les buffles maîtrisent les infections dues à *T p lawrencei*, cela nous indiquera peut-être comment mieux combattre la theilériose chez les bovins. En collaboration avec le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire et l'Institut kényen de recherche agricole, et avec l'appui de Gouvernement néerlandais, nous étudions chez des buffles infectés les réactions immunitaires ou non immunitaires.

Nous savons grâce aux études précé-

dentes que, *in vitro*, les sporozoïtes de souches de *Theileria* prélevées sur des buffles (mais non ceux de souches prélevées sur des bovins domestiques) pénètrent facilement les cellules des bovins comme des buffles et y stimulent la prolifération. En 1986, nous nous sommes surtout intéressés aux réactions immunitaires de caractère cellulaire chez les sujets infectés. Nous avons constaté dans les cellules de 15 buffles, trois indemnes et 12 infectés, une réaction de prolifération à des cellules autologues (prises au même animal) infectées de *Theileria*, mais cette réaction était plus forte quand il s'agissait des sujets infectés. Nous avons pris des cellules à huit des 12 buffles infectés et les avons stimulées *in vitro* avec des cellules autologues infectées de *T parva*; nous avons constaté une réaction cytolitique. Mais nous n'avons pas constaté cette réaction quand il s'agissait de cellules prises aux buffles indemnes, ou encore de cellules prises à des buffles infectés, mais stimulées

avec des cellules, infectées de *T parva*, prises à des sujets différents. Nous en concluons que la réaction cytolitique est spécifique du parasite et qu'elle est génétiquement restreinte. Ces conclusions sont analogues à celles auxquelles nous étions arrivés pour les bovins domestiques. On est tenté d'en déduire que ce dispositif n'est probablement pas seul en cause dans la résistance plus grande des buffles à l'infection par *Theileria*.

Nous avons aussi mis à l'épreuve la spécificité (à l'égard des lignées) de la réaction cytolitique et de la réaction proliférante. Nous avons pris à un buffle infecté de *T p lawrencei* (parasites qui provenaient eux-mêmes d'un buffle) une population mixte de globules blancs (cellules mononucléaires du sang périphérique). Ces cellules ont eu une réaction cytolitique à l'égard de quatre isolats de *T p lawrencei*, et notamment d'un isolat qui différait antigéniquement des autres, selon la réaction des anticorps monoclonaux aux schizontes intracellulaires, et aussi à l'égard d'une lignée de *T p parva*, Kiambu-4, qui venait de bovins domestiques. La réaction proliférante, en revanche, était spécifique à l'égard des lignées, à ce qu'il nous a paru, au moins partiellement. En poussant l'étude de ces réactions, nous arriverons peut-être à une épreuve qui compléterait utilement les méthodes dont nous disposons pour trouver des lignées de *Theileria* à employer éventuellement dans nos essais d'immunisation.

## IMMUNISATION CONTRE LES TIQUES

On sait que des bovins ont eu une réaction immunitaire (aux tiques qui les piquaient)

après avoir subi, sur le terrain, de multiples attaques de tiques. Les animaux de laboratoire, eux aussi, font de fortes réactions d'hypersensibilité à retardement quand ils sont sensibilisés par des piqûres de tique ou par l'inoculation d'extrait de glande salivaire de tique. Ce qui prouve qu'il se crée une résistance, c'est que moins de tiques s'attachent au sujet sensibilisé, et que les tiques qui pourtant piquent et se nourrissent se gonflent moins de sang.

Plusieurs chercheurs ont essayé de renforcer cette résistance à l'infestation des tiques en immunisant le bétail avec des antigènes de tique—en général des extraits complexes de tiques. Ces traitements n'ont pas accru la résistance limitée acquise naturellement, et ils se prêtent très mal, d'autre part, à une application sur le terrain. Nous avons fait des recherches, à l'ILRAD, pour identifier les antigènes de tique qui, étant spécifiques, auraient plus d'effet, dans différents systèmes adjuvants comme un vaccin contre les tiques.

Les lapins et les cobayes qui ont eu une réaction immunitaire à l'égard des tiques qui les piquaient produisent des anticorps qui reconnaissent plusieurs antigènes de tique. Nous nous sommes servis d'antisérums de ces animaux de laboratoire pour identifier 12 principaux antigènes de tique, dont la plupart se trouvent dans la glande salivaire des tiques ou dans leur cément. Certains de ces antigènes sont, à notre avis, communs à plusieurs espèces de tique. Un antigène du cément des tiques, antigène commun à *Rhipicephalus appendiculatus*, *R pulchellus* et *R evertsi*, suscitait une réaction d'hypersensibilité retardée chez des lapins quand on leur inoculait intraveineusement la molécule d'antigène purifié.

# TRYPANOSOMIASE

Les agents de la trypanosomiase sont des protozoaires parasites du genre *Trypanosoma*. Différentes espèces de trypanosome infectent les bovins, les ovins, les caprins, les porcs, les chevaux, les ânes, les chameaux, bien des sortes d'animaux sauvages, et les êtres humains. Du point de vue économique, les plus importantes espèces de trypanosome sont celles qui infectent les ruminants domestiques en Afrique: *Trypanosoma congolense*, *T vivax* et *T brucei brucei*. Des sous-espèces très voisines de *T brucei*, *T b rhodesiense* et *T b gambiense*, causent chez l'homme la maladie du sommeil.

La transmission des trypanosomes se fait le plus souvent par environ 30 espèces ou sous-espèces de glossine ou mouche tsé-tsé (*Glossina* spp). Ces diptères infestent toutes sortes d'habitats sur environ 10 millions de km<sup>2</sup> de l'Afrique, soit sur 37% du continent. Dans les régions qu'infestent les glossines, la typanosomiase chronique réduit gravement la productivité des animaux: croissance médiocre, faible rendement en lait, moindre pouvoir de travail, infertilité. Dans les endroits sévèrement infestés, il est très difficile d'élever même du bétail, et quelquefois même d'habiter là.

La trypanosomiase sévit aussi en Amérique centrale et en Amérique du sud, au Levant et en Asie. Dans ces régions-là, ce sont les piqûres de mouches qui transmettent, mécaniquement, les trypanosomes qui sont importants du point de vue vétérinaire. *T evansi* attaque les chameaux, les chevaux,

les bovins et les buffles domestiques en Afrique, au Levant, en Asie et en Amérique du sud.

Il y a près de cent ans qu'on cherche à maîtriser la trypanosomiase. On a cherché au début à maîtriser la glossine vectrice, soit en détruisant les populations de bêtes sauvages que les glossines piquent pour se nourrir, soit en débroussaillant les fourrés dont les glossines ont besoin pour se reproduire et s'abriter. Plus récemment, les programmes de lutte ont consisté surtout en l'emploi d'insecticides, pratique renforcée quelquefois par l'emploi de pièges à glossines, de cibles ou de grillages. Ces procédés ont eu du succès quand on a appliqué correctement l'usage des insecticides — en particulier au Nigéria, au Botswana, en Zambie et au Zimbabwe. Malgré tout, en dépit des efforts de lutte, la zone qu'infestent les glossines s'élargit actuellement dans beaucoup de pays d'Afrique.

Traiter régulièrement avec des produits trypanocides les animaux infectés est depuis plus de 60 ans une importante méthode de lutte contre la maladie. Elle réussit là où la gestion du bétail se fait avec compétence et persévérance. On ne peut pas cesser d'appliquer les méthodes chimiothérapeutiques de lutte contre la maladie, parce que le bétail est exposé à des glossines qui ont piqué des bêtes sauvages, des bêtes qui constituent un immense réservoir de trypanosomes. Il faut aussi s'inquiéter sérieusement de la naissance éventuelle d'une résistance aux produits chimiques parmi les populations

locales de trypanosomes; or il n'est pas apparu sur le marché, depuis 25 ans, un seul nouveau trypanocide d'usage général.

Le but des recherches de l'ILRAD est d'élaborer de meilleures mesures pour combattre la trypanosomiase, des mesures qui soient efficaces, sans danger et économiquement raisonnables. La base de nos recherches est large, mais on peut les répartir, ces recherches, en trois groupes : mieux combattre les trypanosomes, augmenter la résistance des hôtes à l'infection, étudier l'épidémiologie de la trypanosomiase.

## MIEUX COMBATTRE LES TRYPANOSOMES

Les trois principales espèces de trypanosome que transmettent les glossines passent par plusieurs phases distinctes au cours de leur cycle vital dans la glossine vectrice et dans l'hôte mammifère. Quand une glossine pique un animal infecté, elle absorbe des trypanosomes en même temps que du sang, et ces trypanosomes ont une phase de leur développement à l'intérieur de la glossine. *T brucei* se développe dans l'intestin moyen du diptère, dans son proventricule et dans sa glande salivaire; *T congolense* se développe dans l'intestin moyen, le proventricule et les pièces buccales; *T vivax* a tout son développement dans les pièces buccales. Ces espèces terminent toutes les trois cette phase de leur cycle vital sous la forme métacyclique. La prochaine fois que la glossine piquera un mammifère, les métacycliques infectieux pénétreront dans la peau de l'hôte en même temps que la salive de la glossine.

Quand une glossine transmet à un animal indemne *T congolense* ou *T brucei*, il peut se former à l'endroit de la piqûre une réaction cutanée locale, de plusieurs centimètres de diamètre, qu'on appelle «chancre». Les trypanosomes métacycliques continuent à se développer dans ce chancre, puis envahissent les vaisseaux lymphatiques locaux, et, en passant par le ganglion lymphatique régional, parviennent dans le courant san-

guin. Ceux de l'espèce *T vivax* partent eux aussi de la peau par le réseau lymphatique pour atteindre le courant sanguin, mais la réaction cutanée locale est moins sévère, si même elle se produit.

Ce qui caractérise l'infection du courant sanguin, ce sont des vagues successives de parasitémie, les trypanosomes se multipliant très vite; mais la plus grande partie d'une population meurt bientôt, et il n'en survit que quelques-uns, qui recommencent à se multiplier. On peut aussi trouver *T vivax* et *T brucei* dans les tissus conjonctifs; aux dernières étapes de l'infection, des trypanosomes des trois espèces peuvent aussi envahir le système nerveux central.

Les métacycliques et les formes qui se développent dans le sang des mammifères portent un manteau superficiel épais de 12 à 15 nm. Ce manteau se compose de glycoprotéines, qu'on appelle les glycoprotéines superficielles variables, ou GSV. Les formes du trypanosome qui se développent dans la glossine ne portent pas de GSV tant qu'elles n'ont pas atteint l'étape métacyclique, moment où le parasite est prêt à sa transmission à un hôte mammifère.

Quand un animal prend l'infection, il produit des anticorps contre les GSV que porte la première vague des trypanosomes envahisseurs. Mais, avant qu'il ait pu éliminer tous les trypanosomes de cette vague, il apparaît de nouveaux trypanosomes, revêtus de GSV différentes, qui esquivent la première réaction immunitaire du sujet. Ces trypanosomes se multiplient vite, l'hôte produit de nouveaux anticorps; mais il surgit alors des trypanosomes vêtus d'autres GSV encore; ils ont toujours un pas d'avance sur la réaction de leur hôte.

Cette remarquable aptitude à changer la composition antigénique du manteau superficiel (on l'appelle la variation antigénique) est essentiellement le dispositif qui empêche la plupart des animaux domestiques d'acquiescer une véritable immunité à l'égard de la trypanosomiase. Ce même dispositif permettrait au trypanosome d'échapper à un vaccin de type classique (qui aurait pour principe

d'amorcer les réactions antisomatiques du sujet contre un seul antigène variable ou seulement quelques-uns).

En vue d'améliorer la lutte contre les trypanosomes, nous nous intéressons surtout, à l'ILRAD, au mécanisme de la variation antigénique, à sa base génétique, et à la façon dont les GSV sont synthétisées dans le trypanosome et transportées à la surface. Nous étudions aussi les protéines non variables qui correspondent à telle ou telle étape du cycle vital du trypanosome, ainsi que divers côtés du métabolisme des trypanosomes. Notre objectif est de connaître les facteurs qu'on pourrait manipuler pour bouleverser le développement des trypanosomes ou pour les rendre plus vulnérables aux défenses de leur hôte.

#### GLYCOPROTEINES SUPERFICIELLES VARIABLES

Nous avons fait beaucoup de recherches, à l'ILRAD, sur les gènes qui codent les GSV des trypanosomes et sur la façon dont les gènes se redispotent quand il se produit de nouvelles GSV à la surface du parasite. Comme il y a tellement de gènes, chez le trypanosome, qui codent les GSV, nous nous sommes préoccupés non pas d'identifier tous les gènes de GSV, mais d'élucider les mécanismes qui jouent quand l'expression saute d'un certain gène de GSV à un certain autre, et aussi de connaître le cheminement de la synthèse des GSV et de leur transport jusqu'à la surface de la cellule.

Nous avons pris une séquence à répétition au génome de *T b brucei* et l'avons clonée, pour évaluer son usage éventuel en épidémiologie. Nous avons analysé de façon assez détaillée cette séquence, de 5.200 paires de base. Deux centaines d'exemplaires de la séquence sont disséminées dans le génome des membres du sous-genre *Trypanozoon*. Elle appartient, à notre avis, à la classe des éléments génétiques mobiles qu'on appelle rétroposons, éléments qu'on connaît dans le génome de mammifères et celui d'insectes. Ils se disséminent probable-

ment, ces éléments, quand des exemplaires du premier transcrit d'ADN se rétrotranscrivent en de nouveaux sites du génome.

Qu'un tel élément existe chez les trypanosomes suscite d'intéressantes questions sur l'évolution des rétroposons et sur l'éventualité d'un échange génétique entre le trypanosome et ses hôtes.

Nous avons fait des expériences pour savoir si l'élément de *T b brucei* code une protéine. Il semble bien ressortir de ces expériences qu'en effet il y a une protéine codée dans les formes sanguines des trypanosomes, et une protéine apparentée dans les trypanosomes procycliques, forme présente quand le parasite est dans la glosine et n'est pas revêtu d'un antigène variable. Nous faisons d'autre part des expériences pour savoir si les séquences disséminées joueraient un rôle dans certaines des manœuvres génétiques qui déterminent le saut de l'expression de la GSV.

Il faut qu'au moment où les trypanosomes en sont à telle ou telle phase, leur ARNm possède le transcrit de tous les gènes actifs à cette phase de leur développement. Si le clonage se fait bien, les collections d'ADNe tirées de l'ARNm obtenu à telle ou telle étape comme poncif devraient comprendre tous (ou presque tous) les transcrits de cette étape. Nous avons constitué des collections d'ADNe de *T congolense* en prenant pour poncif l'ARNm purifié tiré des formes sanguines et des formes procycliques cultivées de deux sérodèmes. En comparant les collections tirées de différentes étapes du cycle vital des trypanosomes, nous avons constaté que certains transcrits n'étaient présents (ou n'étaient abondants) qu'à une seule étape de leur développement.

Nous avons ainsi constaté que plusieurs clones recombinants ne sont présents (ou ne sont abondants) que chez les formes sanguines du trypanosome; plusieurs de ces clones ont des séquences qui codent les GSV. Nous analysons maintenant des clones uniquement (ou surtout) présents chez les formes procycliques, pour connaître la nature des protéines qu'ils codent, l'endroit

du trypanosome où elles se trouvent, et le rôle régulateur de leurs gènes au moment où le parasite se différencie. Nous étendrons ces recherches à d'autres phases du développement des trypanosomes, par exemple aux épimastigotes et aux métacycliques, ainsi qu'aux autres souches ou clones de *T congolense* dont nous disposons à l'ILRAD. Nous nous intéressons tout particulièrement aux séquences génétiques qui codent les GSV portées par les trypanosomes pendant leur phase métacyclique.

Des recherches antérieures, faites à l'ILRAD ou ailleurs, avaient donné à penser que c'est peut-être par clivage enzymatique que les trypanosomes (*T b brucei*) rejettent leur manteau de GSV lors de leur passage à la phase procyclique nue. Ce qui nous a donné l'idée de simuler pharmacologiquement l'enzyme agent de ce clivage—la phospholipase-C (enzyme X)—et d'exploiter cette enzyme pour mettre au point de nouvelles interventions chimiothérapeutiques. Nous avons travaillé en 1986 à repérer le véritable emplacement subcellulaire de cette enzyme, et nous sommes servis pour cela des procédés récemment mis au point pour séparer les fractions de cellule et les organites des trypanosomes. Nous avons repéré l'enzyme X, chez les formes sanguines de *T b brucei*, dans la poche flagellaire, éventuellement dans les organites membranaires associés à cette poche ou dérivés d'elle, de plus petites quantités de l'enzyme apparaissant aussi dans l'appareil de Golgi. Chez les formes procycliques cultivées de *T b brucei* et chez les formes sanguines de *T vivax*, nous n'avons pas trouvé cette enzyme, sinon en très petite quantité; chez les formes sanguines de *T congolense*, nous en avons trouvé une proportion intermédiaire. Il ressort de ces études, à notre avis, que l'enzyme X jouerait un rôle dans le système de recyclage GSV-membrane du trypanosome. Nous étudions surtout, à l'heure actuelle, le recyclage des éléments des GSV quand le trypanosome synthétise de nouvelles GSV, et aussi les molécules de l'hôte mammifère qui pénètrent dans la cellule.

Les GSV de *T vivax* ont été l'objet de moins de recherches que celles des autres espèces principales de trypanosome, beaucoup parce que les souches de *T vivax* n'existent que chez des ruminants: il est donc difficile de se procurer en quantité suffisante des matériaux antigéniquement homogènes. Et pourtant il serait particulièrement utile d'étudier au sujet de cette espèce les antigènes du parasite et les réactions immunitaires de son hôte, parce qu'une bonne proportion du bétail infecté par elle réussit—du moins en Afrique orientale—à maîtriser le parasite et à guérir.

Nos recherches antérieures nous avaient montré un manteau de GSV sur des formes métacycliques de *T vivax* dont les souches venaient tant d'Afrique orientale que d'Afrique occidentale. Le manteau superficiel de ce fragile organisme est, semble-t-il, moins dense que celui de *T b brucei* ou de *T congolense*; ce qui donne à penser que le manteau de GSV de *T vivax* protégerait moins bien le parasite que ne fait celui d'autres espèces.

En collaboration avec des chercheurs de l'Université de Victoria et de l'Université de Western Ontario (Canada), nous avons, en 1986, poursuivi nos recherches pour identifier et purifier les GSV de *T vivax*, en nous attachant au début à un clone bien caractérisé (ILDat 1.2) qui vient d'Afrique occidentale. Nos constatations de l'année semblent bien indiquer que la GSV qu'exprime ce clone est une glycoprotéine relativement petite dont l'ancrage membranaire est analogue à celui des GSV d'autres espèces. Nos comparaisons avec d'autres clones du même sérotype nous ont fait penser que leurs GSV étaient elles aussi de relativement petites molécules de base, qui existent peut-être aussi à différents états de glycosylation. Nous avons déterminé la séquence terminale N de la GSV ILDat 1.2; elle diffère beaucoup, à notre avis, de l'extrémité N de la GSV d'autres trypanosomes. Nous nous consacrons maintenant à l'étude structurale des GSV d'autres clones du sérotype ILDaR 1 ou de clones, récemment adaptés

aux rongeurs, d'autres sérodèmes.

Une autre de nos recherches vise à trouver de meilleures techniques de marquage pour identifier les GSV—et peut-être d'autres molécules superficielles—des formes métacycliques de *T congolense* et *T vivax*. Nous avons pris des cellules vivantes, des cellules entières brisées par sonication, des fractions brutes de membranes cellulaires, et les avons marquées de façon covalente par de la biotine chimiquement réactive; nous avons ensuite mesuré l'incorporation du marqueur aux éléments protéiniques, au moyen de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide au dodécyl-sulfate de sodium (SDS-PAGE) et au moyen des taches Western. Comme on pouvait s'y attendre, les suspensions de cellules entières ou de membranes isolées de cellules traitées à la biotine ont donné des bandes moléculaires essentiellement pareilles; en revanche, les cellules brisées par sonication avant leur traitement à la biotine, cellules dont il fallait aussi marquer les éléments, montraient un bien plus grand nombre de protéines marquées. Nous raffinons actuellement ces techniques, de façon à pouvoir analyser de façon plus détaillée les molécules superficielles des trypanosomes.

#### ANTIGÈNES INVARIANTS DES TRYPANOSOMES

Le principal obstacle à la mise au point d'un vaccin efficace contre la trypanosomiase africaine est le phénomène qu'on appelle variation antigénique. Mais les trypanosomes ont aussi des antigènes qui ne sont pas variables, et qui pourraient aider beaucoup au diagnostic de la trypanosomiase, pour déterminer l'espèce et le sérodème des trypanosomes, peut-être pour intervenir dans leur développement à diverses étapes de leur cycle vital, ou même pour trouver un vaccin. Nous avons, en 1986, étudié deux sortes d'antigène invariant: des antigènes superficiels des trypanosomes procycliques, et des antigènes invariants spécifiques des formes sanguines.

Nous avons pris les formes procycliques de 17 souches de trypanosomes (sous-groupe *T brucei*; *T congolense*; *T simiae*), et avons purifié leur glycoprotéines superficielles. Le profil total de leur glycoprotéines a été le même pour les 17 souches, à l'exception de la souche de *T congolense* isolée à Kilifi (Kénya). Nous avons trouvé chez tous les trypanosomes examinés deux glycoprotéines principales, et chez tous, sauf le *T congolense* de Kilifi, un doublet de 86.000 daltons. Nous analysons maintenant en détail les plus importantes des glycoprotéines superficielles qui sont communes aux diverses souches.

En procédant à des études préliminaires sur les antigènes invariants éventuellement présents à la surface de *T vivax*, nous avons obtenu des anticorps monoclonaux contre les antigènes superficiels des formes procycliques de *T vivax*. Nous avons obtenu des anticorps analogues contre les antigènes des formes procycliques de *T congolense* et de *T b brucei*; incorporés aux repas de sang des glossines, ces anticorps permettraient peut-être de bloquer le développement des trypanosomes. Il ressort de nos premières constatations que l'anticorps monoclonal obtenu contre les formes procycliques de *T b brucei* pourrait bien susciter l'agglutination de ces procycliques dans l'intestin moyen de la glossine. Quand nous avons, *in vitro*, mis cet anticorps monoclonal en présence de procycliques de *T b brucei*, nous avons constaté que les trypanosomes se groupaient et que leur croissance ralentissait. Nous poursuivons actuellement des recherches analogues avec les antigènes de *T congolense* et de *T vivax* dans leur phase procyclique.

Nous avons, en collaboration avec l'Université du Massachusetts, d'Amherst (États-Unis), recherché des antigènes invariants qui soient spécifiques des formes sanguines des trypanosomes. Nos premiers travaux au sujet de *T congolense* ont révélé la présence de plusieurs protéines spécifiques de cette phase, et nos observations préliminaires nous portent à croire que certaines de ces protéines se trouveraient à la surface des

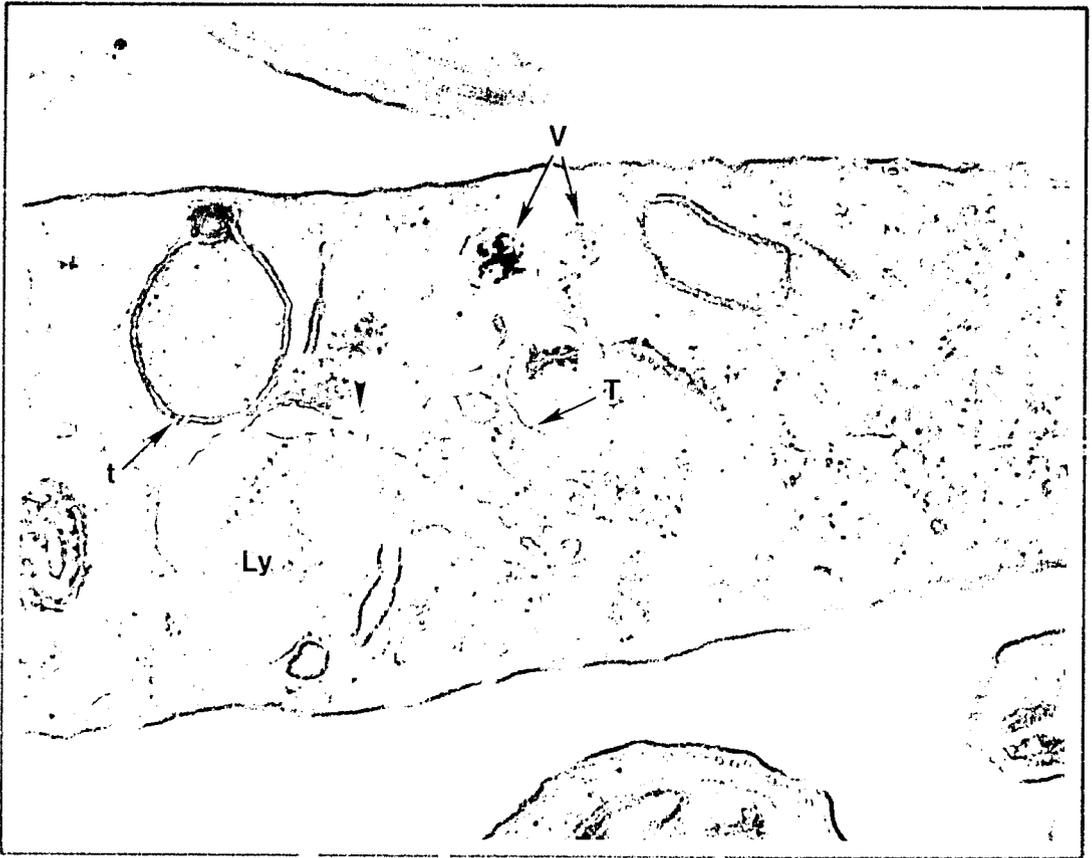


Figure 6 Un des coupes (à l'époxyrésine) pratiquées à travers une cellule de *Trypanosoma congolense*. Nous avons auparavant mis cette cellule en incubation pendant une heure dans de la transferrine bovine associée à de l'or colloïdal (particules de 5 nm). On voit un réseau tubulaire (T), contenant cet or, qui rejoint (tête de flèche) une structure semblable à un lysosome (Ly). Une structure tubulaire plus petite (t) et deux vésicules (V) contiennent aussi l'or marqueur. La transferrine est une protéine qui apporte du fer aux cellules; elle se recycle normalement au début des cheminement endocytotiques. Cette série de coupes nous a montré un certain nombre de compartiments prélysosomiques qui contenaient de la transferrine bovine et semblaient tous liés au lysosome.

trypanosomes, ce qui en ferait d'éventuelles candidates à des recherches en vue de l'immunisation. En poursuivant cette recherche en 1986, nous sommes surtout préoccupés d'élaborer de meilleures techniques pour purifier ces protéines; grâce à quoi nous avons pu confirmer l'existence d'au moins deux antigènes invariants distincts qui sont spécifiques des formes sanguines. Nous nous efforçons maintenant de déterminer leur situation: à l'intérieur du trypanosome ou à sa surface.

Un caractère fort intéressant du cycle

vital des trypanosomes est que, dans le courant sanguin d'un mammifère, ils passent d'une forme à division rapide à une forme sans division. Ce passage à la forme sans division atténue en partie la sévérité de l'infection, en même temps qu'il préparerait les trypanosomes à leur transmission aux glossines. Si nous comprenions mieux le mécanisme de cette transition et des autres transitions que comporte le cycle vital des trypanosomes, cela nous conduirait peut-être à trouver des moyens spécifiques d'empêcher leur développement.

Nous avons entrepris en 1986 les expériences suivantes. Nous avons pris des formes sanguines de *T b brucei*, les unes à division rapide, les autres sans division, et les avons fractionnées en éléments subcellulaires différents: nous avons analysé ces éléments pour identifier les protéines éventuellement spécifiques de l'une ou l'autre de ces phases sanguines. Nous avons mis en incubation avec du phosphate radiomarké des trypanosomes (ou homogénats de trypanosomes) de ces deux phases: puis nous les avons analysés pour voir si les protéines phosphorylées avaient changé. Nous avons identifié et partiellement purifié une protéine phosphorylée, bien plus abondante chez les trypanosomes sans division. Nous étudions maintenant de façon plus détaillée le phénomène de phosphorylation et les enzymes qui en sont les agents. Comme une enzyme, l'aconitase, augmente de façon marquée chez les formes sans division, nous mettons au point, pour cette enzyme, un coloris qui puisse servir à distinguer les formes à division rapide des formes sans division.

## LE METABOLISME DES TRYPANOSOMES

Le but des études sur le métabolisme des trypanosomes est de découvrir des façons de bloquer leur croissance. Cette recherche pourrait aussi nous amener à mieux comprendre les effets pathogènes que les trypanosomes ont sur leurs hôtes, et à trouver de ce fait des façons d'empêcher ou d'alléger les effets les plus graves de l'infection.

On pense que les trypanosomes ingèrent les molécules biologiquement importantes—celles qui les nourrissent, par exemple, ou celles qui sont un signal de différenciation—par une endocytose dont les agents sont les vésicules vêtues. En poursuivant les expériences que nous avons entreprises en 1985, nous avons pris des formes sanguines de *T congolense* et les avons mises en incubation dans une culture où des particules d'or colloïdal étaient associées à de l'albumine de sérum bovin: nous les avons alors fixées chimiquement et les avons examinées au

microscope électronique. Nous avons trouvé les particules d'or, ingérées *in vitro* par les trypanosomes, dans plusieurs organites intracellulaires: la poche flagellaire, des vésicules distinctes, sphériques ou cylindriques situées près de cette poche, des réseaux de cysternes ou lysosomes grands ou petits, ou de petites structures analogues à des lysosomes (figure 6). C'est une observation exceptionnelle: un réseau d'endocytose à interconnexion. Nous cherchons maintenant à savoir avec précision si ce cheminement est le même chez les trypanosomes vivants ou s'il résulte de la mort des trypanosomes.

Les expériences faites avec les formes sanguines de *T brucei* nous font supposer que les GSV du trypanosome s'endocytosent selon les mêmes voies que les éléments nutritifs (figure 7). Il est à présumer qu'il y a endocytose des GSV, avant leur fragmentation ou leur emploi.

Nous avons purifié et en partie caractérisé les vésicules vêtues des formes sanguines de *T b brucei*. En nous servant des antisérums produits contre ces vésicules purifiées, nous avons pu déceler plusieurs molécules qu'on trouve dans le plasma des rats—normaux ou infectés—et que sans doute les trypanosomes avaient ingérées et enclousées dans leurs vésicules vêtues.

Nous avons isolé, des formes sanguines de *T b brucei*, des lysosomes dont nous avons identifié et en partie purifié la prédominante enzyme protéolytique (briseuse de protéine). Quand nous avons mis du sérum dilué de mammifère en contact avec ces lysosomes purifiés, nous avons constaté que l'action protéolytique totale augmentait. Ce facteur d'activation se rencontre dans le sérum des rats, celui des lapins et celui des bovins. Nous travaillons actuellement à le caractériser et à le purifier. Il se peut que ce facteur, en pénétrant dans les lysosomes des trypanosomes vivants, soit un régulateur, tiré des mammifères, de la protéolyse des trypanosomes.

Nous avons d'autre part étudié, en 1986, les enzymes que les trypanosomes introduiraient dans le courant sanguin de leur hôte,

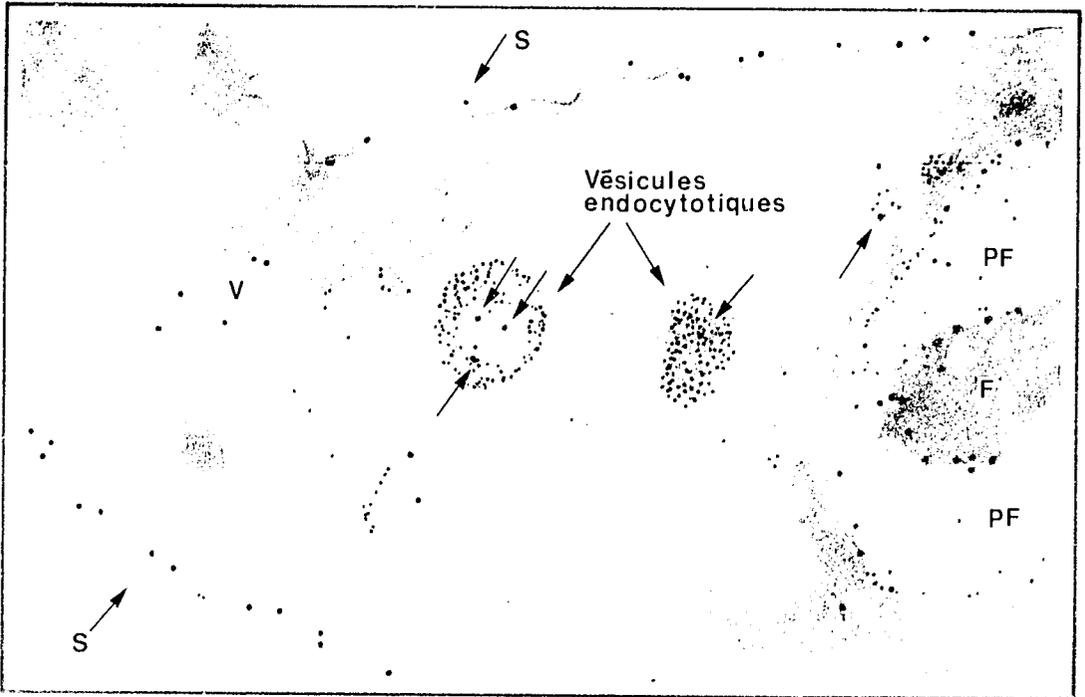


Figure 7 Coupe cryotomique mince (après dégel) d'une cellule de *Trypanosoma brucei* que nous avons auparavant mise en incubation pendant une heure dans de l'albumine de serum bovin associée à de l'or colloïdal (particules de 5 nm). Nous avons marqué cette coupe avec de l'anticorps anti-GSV de lapin associé à de l'or colloïdal-protéine A (particules de 10 nm). Les petites particules marquent les cheminements endocytotiques, qui servent sans doute à l'absorption d'éléments nutritifs. Les grandes particules (qui nous indiquent la présence de GSV) marquent la surface du trypanosome (S), la poche flagellaire (PF) qui contient le flagellum (F) et plusieurs structures internes. Beaucoup de vésicules endocytotiques contiennent à la fois de petites particules et de grandes particules, ce qui nous indique que les GSV s'endocytosent selon les mêmes cheminements que les aliments s'absorbent. Une vésicule (V) ne contient que le marqueur des GSV.

en endommageant ses tissus et en contribuant ainsi à la pathologie de la trypanosomiase. Nous avons trouvé chez *T. b. brucei* une peptidase sérique que nous avons partiellement purifiée; elle se répand dans la culture, d'après nos observations, quand on endommage les trypanosomes en les manipulant mal; il se peut donc que les trypanosomes la répandent dans le courant sanguin de leur hôte quand ils meurent. Nous avons identifié une autre peptidase dans le plasma de rats que nous avons infectés avec *T. b. brucei* et celui de bovins infectés par *T. congolense*. Cette enzyme nous paraît provenir des trypanosomes, et nous travaillons

actuellement à la caractériser de façon plus précise.

Dans leur vecteur, la glossine, les trypanosomes de l'espèce *T. vivax* se développent entièrement dans la trompe de l'insecte, selon nos observations. La culture de *T. vivax in vitro* nous a permis de constater un phénomène intéressant: la façon dont, vers la fin de leur évolution, les formes sanguines s'attachent aux perles de gel vert Matrix A Amicon. Nos travaux de 1985 nous avaient appris que cette adhérence ressemble beaucoup à la façon dont cette espèce adhère à la trompe des glossines. L'étude biochimique du phénomène nous a

montré qu'il s'agit d'un rapport récepteur-ligand. En isolant les molécules intéressées—celles du trypanosome ou celles de la glossine—, nous arriverons peut-être à une méthode originale pour maîtriser le développement des trypanosomes et la transmission de la maladie.

Nous nous sommes efforcés de déterminer avec précision la configuration des molécules de teinture qui colorent les perles en question; nous avons pour cela tenté de bloquer l'adhérence des trypanosomes aux perles par leur incubation avec des anticorps, produits chez des lapins, contre la teinture Matrix A, ou avec diverses lectines ou divers sucres. Les résultats de ces essais n'ont pas été concluants.

Dans le même esprit, nous avons cherché à identifier la molécule ligande de la surface du trypanosome. Nous avons suivi la méthode, décrite plus haut, de marquage à la biotine, nous avons pris aux dernières formes sanguines de *T vivax* des molécules superficielles, que nous avons marquées de façon covalente avec de la biotine chimiquement réactive. Nous allons étudier les protéines que nous aurons ainsi identifiées, pour savoir si elles jouent un rôle dans les rapports entre *T vivax* et les perles de Matrix A.

#### CULTURE DES TRYPANOSOMES IN VITRO

Nous avons mis au point, à l'ILRAD, des systèmes de culture où les trois principales espèces de trypanosomes africains peuvent toutes se développer d'un bout à l'autre de leur cycle vital. Nous améliorons nos techniques de culture *in vitro* de façon à fournir à nos recherches biochimiques ou immunologiques des quantités suffisantes de trypanosomes aux différentes phases de leur cycle vital. Nous nous servons aussi de trypanosomes élevés *in vitro* pour étudier l'action des produits trypanocides et la résistance à ces produits. Nous nous sommes surtout occupés, en 1986, d'améliorer la production des trypanosomes métacycliques, et de

mieux les caractériser.

La première espèce de trypanosome que nous avons élevée *in vitro* d'un bout à l'autre de son cycle vital avait été *T b brucei*. Nous avons pourtant trouvé difficile de produire de grosses quantités des métacycliques de cette espèce. En 1986, nous avons adopté un nouveau système, qui consiste à faire passer les trypanosomes, de façon cyclique, de la culture *in vitro* à des souris, et *vice versa*. Cette méthode a beaucoup développé la production des métacycliques infectieux, et abrégé le délai de leur apparition en culture.

Parmi les diverses souches et les divers clones de *T congolense* dont dispose l'ILRAD pour produire des métacycliques *in vitro*, la plus prolifique a été une souche isolée dans la région de Trans-Mara (Kénya). Pendant la seule année 1986, cette souche a produit trente trillions de métacycliques. Mais certains clones de cette souche ne prennent pas *in vitro* la forme d'épimastigotes producteurs de métacycliques. C'est pourquoi nous avons obtenu en 1986 plusieurs nouveaux clones, que nous mettons maintenant à l'épreuve pour choisir ceux qui produiront le maximum de métacycliques infectieux pour les animaux.

Les trypanosomes de l'espèce *T congolense* que nous avons isolés à Kilifi à l'occasion de notre étude épidémiologique diffèrent à plusieurs égards, d'après nous, de ceux qu'on isole ailleurs en Afrique, notamment par ce que réclame leur culture *in vitro*. Quand on s'était d'abord efforcé de cultiver les souches ou clones de Kilifi selon les procédés qui réussissaient avec d'autres souches de *T congolense*, on n'était pas arrivé à des résultats constants. Nous avons recouru en 1986 à un nouveau procédé, qui nous a permis de produire en assez grand nombre des formes métacycliques infectieuses de *T congolense* du type Kilifi. A la différence du procédé que nous employons pour les métacycliques d'autres souches de *T congolense*, celui-ci s'appuie sur la présence de cellules des couches nourricières de mammifère.

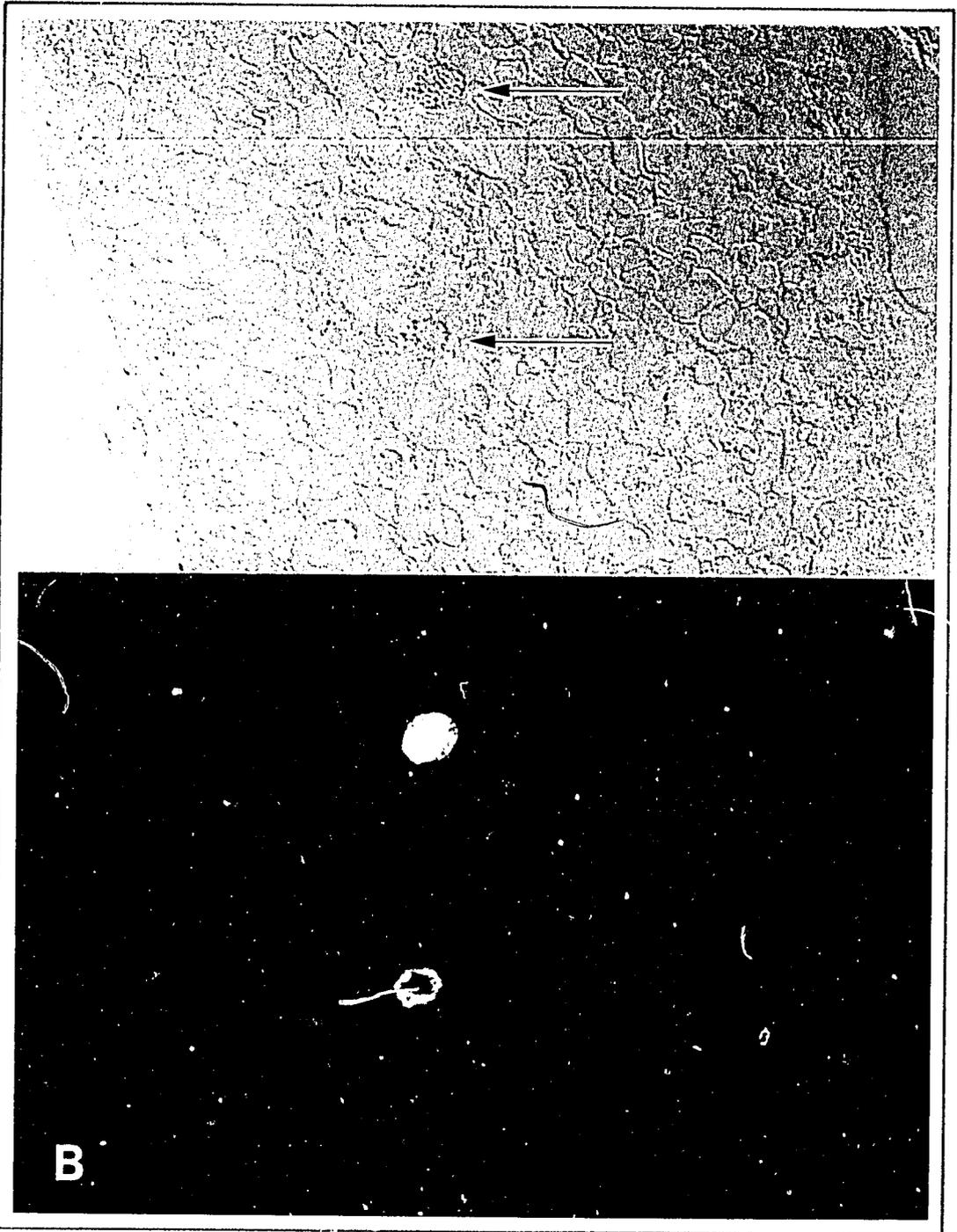


Figure 8 Marquage antisomatique, par immunofluorescence indirecte, d'un intestin bovin, au moyen d'un anticorps anti-aprotinine de lapin suivi d'un anticorps bovin anti-lapin associé à de la rhodamine. A Cette coupe cryotomique demi-mince (0,5  $\mu\text{m}$ ) pratiquée à travers une villosité d'un intestin bovin normal, apparaît (après dégel) sous l'éclairage Nomarski, contraste par interférence différentielle. On voit deux mastocytes granulaires (flèches). B La même plage de la coupe, sous l'éclairage d'une lumière fluorescente incidente. On voit le marqueur fluorescent associé aux deux mastocytes granulaires que les flèches indiquaient en A.

Nous avons contrôlé la stabilité antigénique des métacycliques, cultivés *in vitro*, de *T congolense* du type Kilifi, en infectant des souris avec des métacycliques obtenus *in vitro*, en les traitant à l'acéturate de diminazène («Bérénil» de Hoechst), et en les attaquant 14 jours plus tard avec des métacycliques; sur neuf souris, huit ont résisté à l'infection, ce qui signifierait une grande stabilité antigénique. Dans une autre expérience, nous avons infecté cinq souris, nous les avons traitées à l'acéturate de diminazène, et avons procédé sur elles à une attaque «de renforcement», 11 jours plus tard, avec des métacycliques obtenus *in vitro*. Quand, trois semaines après le traitement chimique, nous les avons attaquées—par transmission par des glossines—avec des métacycliques du même clone, quatre sur les cinq ont résisté à l'infection; chez la cinquième, l'infection ne s'est déclarée que 42 jours plus tard.

Nous pouvons produire en culture un grand nombre de métacycliques de *T vivax*, mais le caractère infectieux de ces formes obtenues *in vitro* est resté douteux. Il faut plus de 10.000 de ces trypanosomes obtenus *in vitro* pour déterminer l'infection d'une souris, alors que la souche en question (IL1392) est infectieuse, nous le savons, quand c'est une glossine qui la transmet. Nous avons fait des expériences, en 1986, pour contrôler le caractère infectieux, pour les chèvres, des métacycliques de *T vivax* obtenus *in vitro*. Sur cinq chèvres, quatre sont tombées malades après l'inoculation de 5.000 trypanosomes; sur quatre chèvres, deux sont tombées malades après l'inoculation de 50 trypanosomes seulement; ce qui prouve que cette souche de *T vivax* est bien plus infectieuse pour les chèvres que pour les souris.

Nous avons fait une autre expérience encore pour contrôler la stabilité antigénique de ces trypanosomes. Nous avons infecté des chèvres avec des métacycliques de *T vivax* obtenus *in vitro*; nous les avons traitées à l'acéturate de diminazène; puis nous les avons attaquées avec des métacycliques

similaires. Tous les animaux de l'expérience sont tombés malades. D'autre part, ce procédé, qui confère l'immunité quand il s'agit d'autres espèces de trypanosome, n'a pas réussi non plus quand c'étaient des glossines qui étaient les vecteurs de la nouvelle attaque par métacycliques de *T vivax*. Nos investigations portent actuellement sur ce phénomène.

## MEILLEURES REACTIONS DE L'HOTE

### DANS LA PEAU D'ABORD

La première réaction de l'hôte à l'infection des trypanosomes est souvent l'apparition d'une réaction cutanée locale—qu'on appelle chancre—à l'endroit où la glossine infectée l'a piqué. Des études antérieures sur la dynamique des populations de cellules dans le chancre nous avaient révélé l'énorme augmentation des leucocytes polymorphonucléaires et des lymphocytes, une augmentation aussi des cellules plasmiques, des macrophages et des mastocytes. Les mastocytes sont d'un intérêt particulier, parce qu'il y en a à toutes les entrées éventuelles des parasites, notamment la peau, les poumons et le tube digestif, et qu'ils jouent, à ce qui semble, le rôle de sentinelles dans le système défensif de l'hôte.

Les mastocytes sécrètent plusieurs éléments chimiques: médiateurs et enzymes, qui déclenchent des réactions d'hypersensibilité, soit immédiate soit retardée, et aussi des réactions cytolytiques ou immunorégulatrices. Il se peut aussi que les mastocytes jouent un rôle central dans l'attraction d'autres cellules de l'hôte vers le chancre. Etant donné cette éventuelle importance des mastocytes dans la réaction du chancre, nous avons travaillé en 1986 à trouver des marqueurs biochimiques pour identifier les mastocytes bovins et leurs produits.

Il ressort d'études récentes qu'il y a aurait dans les mastocytes de l'aprotinine, inhibiteur bovin de protéase. Nous avons donc fait des expériences pour savoir si l'on pourrait

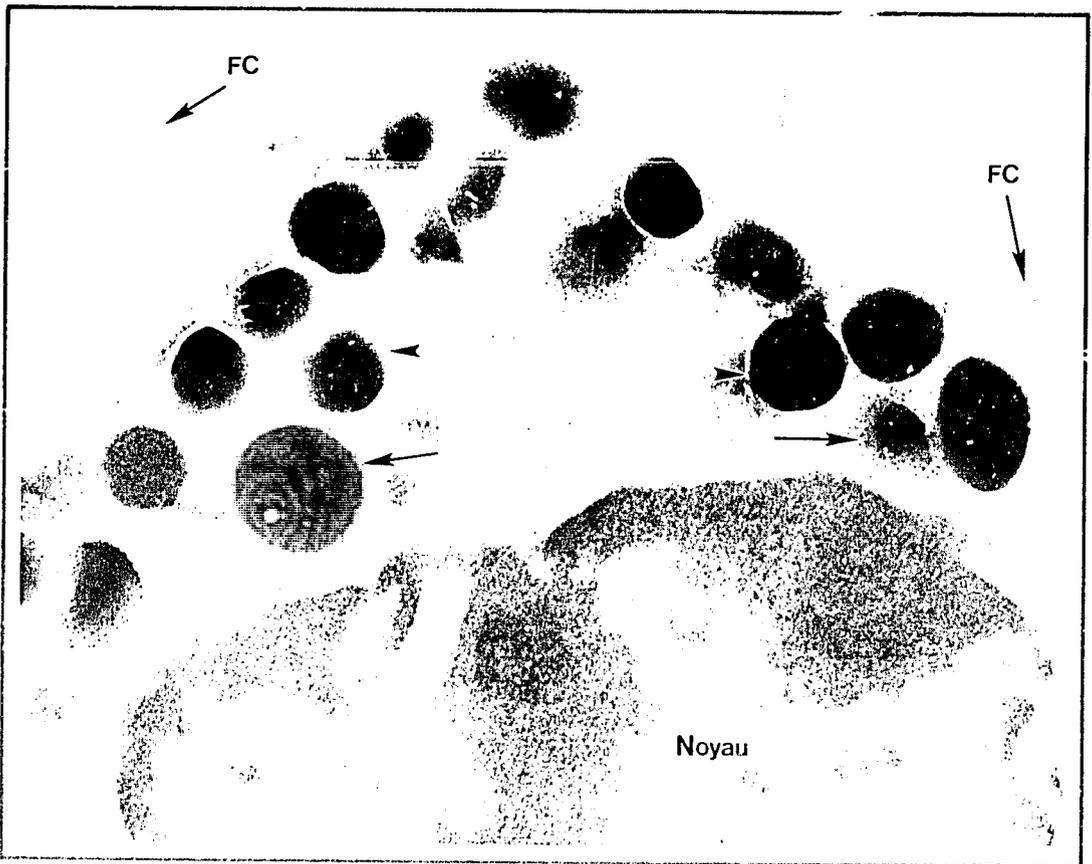


Figure 9. Coupe cryotomique mince pratiquée à travers un mastocyte intestinal bovin. On voit (après dégel) des filaments cytoplasmiques (FC) et des granules (flèches et têtes de flèche). Nous avons mis cette coupe en incubation avec de l'anticorps anti-aprotinine de lapin, associé à de l'or colloïdal-proteine A (particules, de 5 nm). On voit sur certains des granules (flèches) de grands nombres de particules, mais sur certains autres (têtes de flèche) on n'en voit guère. Il y a quelques particules sur le cytoplasme - sur le noyau, leur nombre est négligeable.

employer cette molécule bien caractérisée pour marquer les mastocytes. Nous avons tiré de l'aprotinine de poumons bovins, l'avons purifiée, avons entrecroisé les dimères, et nous en sommes servis pour produire des anticorps chez des lapins. Ces anticorps antiaprotinine reconnaissent les mastocytes, nous l'avons constaté, dans des sections de divers tissus bovins: intestin, muqueuse nasale, poumon. La microscopie électronique ne nous a montré la coloration de l'aprotinine qu'exclusivement dans les granules des mastocytes (figures 8 et 9).

Ce sont souvent les animaux les plus résistants à la trypanosomiase qui font les

chancre les plus gros et les plus enflammés. On peut donc penser qu'un sujet résistant est capable de déverser le contenu granulaire des mastocytes, d'attirer des neutrophiles et des lymphocytes, de produire des médiateurs inflammatoires et de limiter ainsi le taux de croissance des trypanosomes dans la peau mieux que les sujets sensibles. La technique que nous avons élaborée en 1986 pour la coloration de l'aprotinine va permettre d'étudier le rôle de la dégranulation des mastocytes dans la réaction aux trypanosomes présents dans le chancre, permettre aussi de comparer la réaction des bovins résistants à celle des bovins sensibles. Nous

pourrons aussi étudier les effets des sécrétions des mastocytes—notamment l'histamine, les leucotriènes, les prostaglandines et l'aprotinine—sur la croissance des trypanosomes *in vitro*.

#### RAPPORTS DES TRYPANOSOMES ET DE L'HÔTE DANS LE COURANT SANGUIN

Nos premières études sur l'infection par *T b brucei* chez les bovins, chez le taurotrague et chez le buffle d'Afrique nous avaient appris qu'il y a deux réactions dans la lutte de l'hôte contre la parasitémie: lutte contre la croissance des trypanosomes, par des moyens non immunologiques; destruction des trypanosomes, par les anticorps de l'hôte. Des études plus détaillées ont suivi, depuis plusieurs années, qui portent sur des lignées de souris dont les unes sont trypanorésistantes et les autres trypanosensibles. Le but de ces études est de connaître les dispositifs qu'on pourrait renforcer par des moyens chimiothérapeutiques ou immunologiques.

#### Maîtriser la croissance des trypanosomes

Nos études de 1986 *in vitro* ont confirmé nos observations antérieures: les formes sanguines de *T b brucei* se multiplient sous l'action d'éléments de croissance qu'elles tirent de leur hôte, éléments nutritifs dont on trouve des bribes dans le sérum des sujets infectés. La prolifération des formes sanguines de *T b brucei* dans une culture sans cellules nourricières était en corrélation, nous l'avons constaté, avec la quantité de sérum employée; il ressort d'études préliminaires que les molécules sériques qui favorisent la croissance ont un poids moléculaire supérieur à 100.000 daltons.

Ces molécules du sérum qui permettent la multiplication des trypanosomes pouvaient bien être des protéines, mais ce n'étaient pas des immunoglobulines, des lipoprotéines ou des lipides. Elles étaient extrêmement hétérogènes quant à leur taille et à d'autres paramètres; il faut probablement en déduire que cette aide à la croissance vient de molécules

de plusieurs sortes. Nous travaillons actuellement à caractériser de façon plus précise ces molécules sériques qui favorisent la multiplication des trypanosomes.

Nous avons déjà constaté qu'en injectant à des souris des bactéries mortes de l'espèce *Corynebacterium parvum*, bactérie qui est un immunostimulateur non spécifique, on les rend mieux capables de maîtriser l'infection par *T b brucei*. La raison en est qu'on accélère ainsi le passage des trypanosomes de la forme à division à la forme sans division (figure 10). En 1986, nos études *in vitro* nous ont appris que de grandes molécules du sérum des souris traitées de cette façon empêchaient le sérum normal de souris ou le sérum fœtal de bovin de favoriser la croissance des trypanosomes (*T brucei*). Ces molécules inhibitrices sont hydrophiles, et leur poids moléculaire varie de 100.000 daltons à un million de daltons.

On peut aussi produire des molécules de caractère analogue en nourrissant avec ces bactéries mortes des macrophages viables de souris, pendant deux jours, *in vitro*, ou encore—mais avec des effets 4.000 fois plus faibles—en laissant ces bactéries dégénérer *in vitro* en l'absence d'autres cellules. Cela nous porte à penser que les macrophages agissent sans doute sur ces bactéries mortes et donnent ainsi des produits de dégradation. Il est vraisemblable que ces produits se lient, chez *T brucei*, aux récepteurs de facteurs de croissance, mais sans provoquer de croissance. Nous travaillons maintenant à identifier ces inhibiteurs de croissance que procure *C parvum*.

#### La production d'anticorps par l'hôte

Les souris très sensibles à la trypanosomiase ne produisent pas, contre les trypanosomes, d'anticorps que nous puissions déceler. Nos recherches antérieures nous avaient amenés à penser que la présence des trypanosomes empêche chez ces souris la sécrétion d'anticorps par les lymphocytes B. Nous avons voulu, en 1986, vérifier cette hypothèse en comparant des souris trypanorésistantes

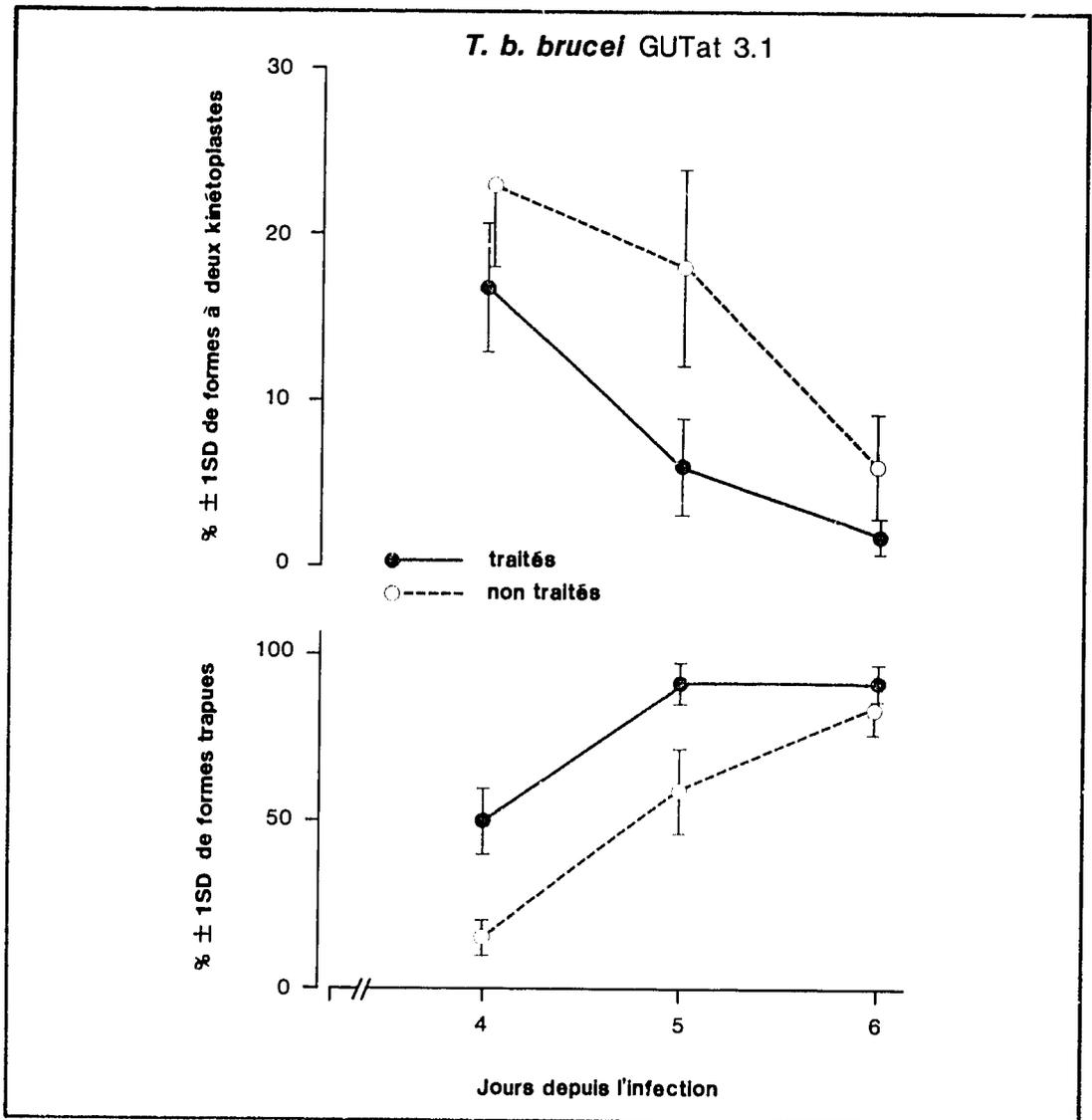


Figure 10. Influence du traitement préalable au *Corynebacterium parvum* sur le passage des trypanosomes (*T. b. brucei*) à la forme sans division dans le sang de souris infectées. Nous avons pris des groupes de 10 souris C57Bl/6, les avons traités avec 1,4 mg de *C. parvum* tué par la chaleur, et les avons infectés deux jours plus tard avec *T. b. brucei* GUTat 3.1. Nous avons préparé jour après jour des frottis minces du sang de leur queue, les avons séchés à l'air, fixés au méthanol, colorés au Giemsa et examinés au microscope pour voir si nous y trouvions des organismes à deux kinétoplastes (formes à division) et des organismes trapus (formes sans division).

(C57Bl/6) à des souris sensibles (C3H/He).

Une fois infectées par *T. b. brucei* ou *T. vivax*, les souris résistantes ont maîtrisé la première vague de parasitémie en produisant l'anticorps spécifique du type antigénique dominant des trypanosomes. En revanche,

les souris sensibles n'ont pas pu produire l'anticorps spécifique et n'ont pas pu maîtriser la première vague, bien que leurs lymphocytes B, devenus très actifs, se soient transformés en cellules plasmiques à anticorps. En analysant *in vitro* les cellules de la

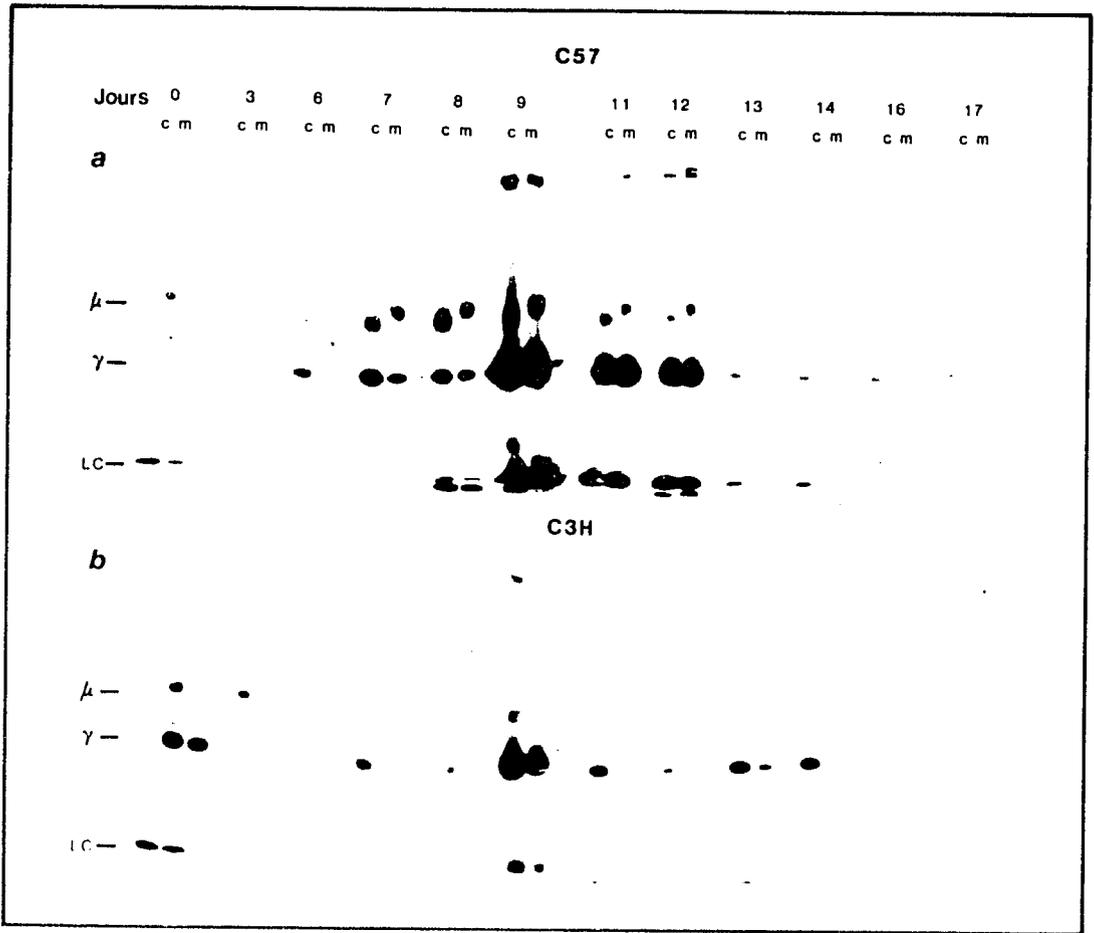


Figure 11. Synthèse et sécrétion d'immunoglobuline par des cellules de rate prélevées sur des lignées de souris, les unes résistantes (C57Bl/6), les autres sensibles (C3H/He), depuis leur infection par *T b brucei* GUTat 3.1. A partir du jour 6, 7% à 18% de toutes les populations de cellules spléniques contenaient de l'immunoglobuline (Ig). Pour marquer les cellules, nous les avons mises en incubation *in vitro* avec  $^{35}$ S-méthionine, précipité l'immunoglobuline—tant celle des cellules que celle qui était déjà sécrétée—, l'avons analysée par la méthode PAGE au dodécyl-sulfate de sodium, et avons fait sécher les gels, dont l'autoradiographie a suivi. La lettre  $\mu$  note une chaîne lourde d'IgM; sa forme sécrétée (m) est plus grande que sa forme intracellulaire (c). La lettre  $\gamma$  note une chaîne lourde d'IgG. LC note une chaîne légère d'Ig. Il est clair que les souris sensibles synthétisent et sécrètent beaucoup moins d'IgM ou d'IgG, pendant l'infection, que les souris résistantes, encore que les unes et les autres aient de l'Ig dans à peu près le même nombre de cellules de leur rate.

rate des souris sensibles infectées par *T b brucei* ou *T vivax*, nous avons constaté que les cellules à anticorps induites par les trypanosomes étaient devenues incapables de synthétiser l'anticorps comme de le sécréter (figure 11).

En analysant les souris résistantes, nous avons constaté qu'au moment de la deux-

ième vague parasitémique, les cellules plasmiques fonctionnaient mal. Phénomènes concomitants: elles ne pouvaient pas produire d'anticorps, et la deuxième vague s'est prolongée. Mais la synthèse de l'anticorps et sa sécrétion ont pris un rythme cyclique, diminuant et augmentant alternativement, grâce à quoi la deuxième vague s'est calmée

finalement; ce qui nous fait penser qu'il existerait un dispositif d'antisuppression, dispositif qui finirait par rétablir le fonctionnement des cellules plasmiques. Nous étendons actuellement cette recherche aux bovins domestiques, pour savoir si le phénomène observé chez les souris est d'une importance qui justifierait une analyse plus poussée.

Les recherches que nous avons faites en 1986 sur l'infection par *T vivax* chez les chèvres avaient pour but de déterminer la sorte de réaction antismatique des sujets infectés et le niveau de cette réaction, ainsi que le degré de protection qu'elle confère. L'expérience avait commencé en 1985. Nous avons immunisé des chèvres—par infection au moyen de glossines, puis traitement chimique—avec une souche est-africaine de *T vivax* (IL2133) ou avec un clone de cette souche (IL2710). Les chèvres infectées avec le clone sont devenues résistantes au bout de deux ou trois immunisations (cycles d'infection plus traitement), mais les chèvres immunisées avec la souche mère sont restées sensibles à la maladie; mais leur infection se trouvait retardée et n'était que passagère. Nous avons obtenu un résultat analogue quand nous avons laissé les chèvres guérir toutes seules après leur infection chronique avec la même souche, et les avons ensuite attaquées.

Il se peut que les glossines infectées de cette expérience aient transmis trop peu de métacycliques pour susciter une réaction immunitaire suffisante, ou que les trypanosomes n'aient pas disposé de tout le répertoire d'antigènes variables que les chèvres ont subi lors de l'attaque. C'est pourquoi nous avons entrepris une autre expérience, au cours de laquelle nous infectons les chèvres en les exposant à un très grand nombre de glossines infectées.

Nous avons trouvé des techniques pour identifier et quantifier les différentes sortes d'anticorps que produisent des chèvres infectées par trois souches différentes de *T vivax*. Il ressort des résultats préliminaires que la concentration d'IgG<sub>2</sub> dans le sérum

ne change pas au cours de l'infection, mais que celle d'IgG<sub>1</sub> augmentait chez certaines chèvres infectées, mais non chez toutes, et que la concentration d'IgM augmentait 10 jours environ après l'infection. C'est à peu près dans le même délai que nous avons décelé des anticorps contre les antigènes communs de *T vivax*, ainsi que des anticorps trypanolytiques. Nous allons poursuivre notre recherche de ce côté en mesurant les réactions antismatiques et en identifiant les antigènes que les caprins et les bovins reconnaissent dans l'infection par *T vivax*.

### Un réactif de phase aiguë

On appelle réactifs de phase aiguë des éléments du plasma de l'hôte dont la concentration augmente notablement du fait de certaines étapes d'une maladie. Ces réactifs sont des protéines, souvent des glycoprotéines, que produisent les cellules du parenchyme hépatique; on sait que beaucoup de ces réactifs ont une fonction biologique.

Nous avons entrepris des recherches, en 1986, pour examiner les différences de concentration des réactifs de phase aiguë, dans l'infection par *T b brucei*, entre des souris trypanorésistantes (C57Bl/6) et des souris sensibles à la trypanosomiase (C3H/He). Nous avons constaté qu'une des protéines était beaucoup plus concentrée dans le plasma des souris résistantes, et qu'il s'agissait d'une sous-unité de l'haptoglobine, protéine de phase aiguë qui lie l'hémoglobine libérée dans le plasma, et empêche ainsi le rein d'être malade et le corps de perdre son fer. Cette plus forte concentration d'haptoglobine dans le plasma des souris résistantes est due, d'après nos observations, à une plus forte synthèse de cette molécule dans le foie du sujet. Quant aux souris sensibles, elles produisent, dans leur réaction à d'autres atteintes, autant de cette molécule que les souris résistantes; on ne voit donc pas très bien pourquoi elles diffèrent dans leur réaction d'haptoglobine à l'infection par des trypanosomes.

## BOVINS TRYPANOTOLERANTS ET BOVINS SENSIBLES

Les études faites sur le terrain ont prouvé que les bovins ndama (*Bos taurus*) d'Afrique occidentale sont mieux capables de maîtriser l'infection par des trypanosomes et de résister aux signes cliniques de la maladie que les zébus (*Bos indicus*) ou les races taurines d'Europe. Nous avons commencé en 1985 des recherches très actives sur le mécanisme (ou les mécanismes) de la résistance des Ndamas à la trypanosomiase. Nous nous servions pour cela de 10 Ndamas importés de Gambie par transfert d'embryons; et nés à l'ILRAD. Dans nos expériences de 1986, nous avons examiné les effets d'infections répétées—avec différents sérodèmes de *T congolense*—sur des Ndamas trypanotolérants et sur des Borans sensibles.

Nous avons formé deux groupes de huit bêtes de 13 mois, l'un avec des Ndamas, l'autre avec des Borans, et les avons attaqués tous deux avec *T congolense* (IL1180) transmis par des glossines. Ensuite, nous les avons tous traités, 164 jours plus tard, à l'acéturate de diminazène. Nous avons traité plus tôt les bêtes qui avaient fait une sévère anémie, manifestée par la chute, jusqu'à 15%, de leur hémato-crite. Au moment du traitement final, nous avons aussi traité huit Borans du même âge, non infectés; et, 25 jours plus tard, nous avons attaqué les 24 bêtes avec un deuxième sérodème de *T congolense* (IL2642), transmis par des glossines. Nous avons traité toutes ces bêtes, 127 jours après cette attaque, à l'acéturate de diminazène. Nous avons, là encore, traité plus tôt les sujets dont l'hématocrite était tombé à 15%. Comme dans le cas précédent, nous avons traité en même temps que les bêtes infectées un groupe de huit Borans du même âge, non infectés. Nous avons alors attaqué les 16 bovins du groupe primitif, plus les huit Borans non infectés, avec un troisième sérodème de *T congolense* (IL1587), transmis par des glossines. Ensuite, 149 jours plus

tard, nous les avons traités à l'acéturate de diminazène (plus tôt, dans ce cas encore, si leur hémato-crite était tombé à 15%). Nos analyses préliminaires ont porté sur les réactions des Ndamas aux trois attaques consécutives. Pour mesurer la virulence des trois sérodèmes de *T congolense*, nous avons comparé la réaction à chaque attaque des groupes boran jusque-là non infectés.

Aucun des Ndamas infectés n'a eu besoin d'un traitement anticipé, tandis que la plupart des Borans ont exigé le traitement anticipé après chaque attaque. Cela montre que les Ndamas étaient notablement plus résistants que les Borans, et aussi que les trois sérodèmes de *T congolense* étaient d'une virulence analogue.

### Parasitémie et anémie

Les débuts de la parasitémie étaient très analogues pour les deux races, quant à la force et au moment de la première pointe. Les Ndamas ont commencé à maîtriser la parasitémie tout de suite après cette première pointe, et la plupart ont eu une parasitémie faible jusqu'au moment de leur traitement (figure 12). Dans cinq des 24 cas possibles, des Ndamas avaient guéri tout seuls avant le traitement chimiothérapique, comme l'a confirmé la subinoculation de leur sang à des souris. L'analyse statistique du degré de parasitémie n'a pas révélé d'amélioration chez les Ndamas, au cours des trois infections consécutives, quant à la maîtrise des trypanosomes.

En revanche, ces Ndamas ont mieux maîtrisé l'anémie au moment de la troisième infection (figure 12). Ils ont manifesté de l'anémie lors des trois attaques, mais le plus bas des hématocrites moyens était de 22% lors de la première infection et de la deuxième, et de 26% à la troisième. La remontée de l'hématocrite, après sa chute première, a elle aussi été plus rapide après chaque infection consécutive. Les Borans soumis aux trois infections n'ont pas manifesté de progrès quant à la maîtrise de l'anémie. La meilleure maîtrise de l'anémie par les Nda-

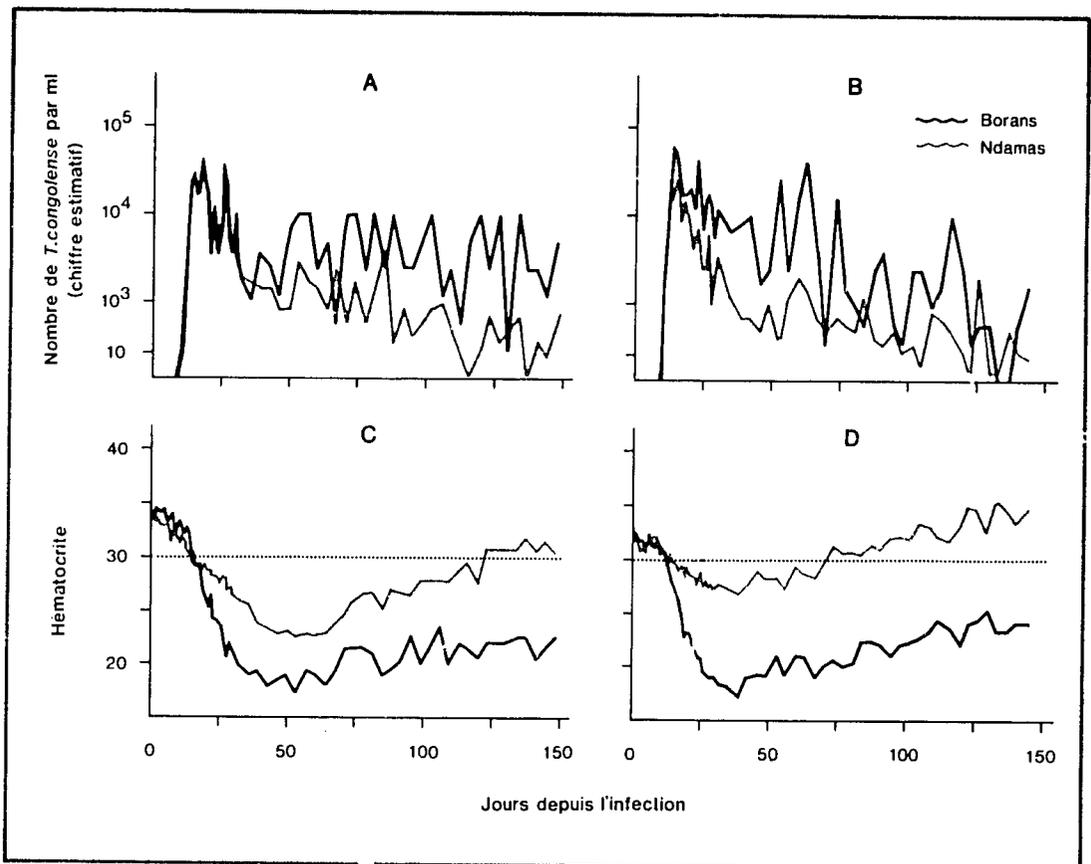


Figure 12. Evolution de la parasitémie et de l'anémie chez des bovins ndama et des bovins boran au cours d'infections répétées par différents sérodèmes de *T. congolense*. Nous avons pris 8 Ndamas et 8 Borans, tous âgés de 13 mois, les avons attaqués, au moyen de glossines, successivement avec trois sérodèmes de *T. congolense*: IL1180, IL2642 et IL1587, et les avons traités à l'acéturate de diminazène, de quatre à six mois après chaque attaque. Les graphiques donnent le nombre de trypanosomes (chiffre moyen estimatif) par ml de sang jugulaire pendant la première infection (A) et la troisième (B) et d'autre part l'hématocrite moyen après la première infection (C) et la troisième (D). Nous avons traité à l'acéturate de diminazène six Borans vers le jour 41 de la première infection, et cinq vers le jour 39 de la troisième. Aucun des Ndamas n'a eu besoin de traitement. Chez les Ndamas, l'anémie était mieux maîtrisée, mais non la parasitémie, pendant les trois infections consécutives.

mas peut tenir à une plus grande résistance de leurs globules rouges aux effets pathologiques de la trypanosomiase, ou à une plus rapide production de nouveaux globules rouges dans la moëlle.

Pris individuellement, les Ndamas se sont comportés de façon constante, pendant les trois infections, dans leur lutte contre la parasitémie et contre l'anémie: tel ou tel d'entre eux a régulièrement réussi mieux ou moins bien que tel ou tel autre. Pourtant, ceux qui

ont bien maîtrisé l'anémie n'étaient pas les mêmes que ceux qui ont bien maîtrisé la parasitémie. Nous pouvons donc penser qu'il y a deux dispositifs qui fonctionnent indépendamment, un plus grand nombre de trypanosomes n'entraînant pas forcément une anémie plus sévère.

Après cette première étude viendra une analyse plus détaillée des dispositifs de résistance à la trypanosomiase. Pour étudier la maîtrise de l'anémie, nous examinerons

les variations que peut subir la production des globules rouges par réaction à l'infection par les trypanosomes. En vue de cette recherche, nous avons trouvé en 1986 les techniques dont nous aurons besoin pour nous procurer des spécimens de moëlle bovine et pour en cultiver les cellules stromales *in vitro*.

### Changements des populations de globules blancs

La base de la trypanotolérance nous échappe encore; mais on a émis l'idée que des réactions immunitaires antitrypanosomes d'ordre supérieur pourraient y jouer un grand rôle. Pour commencer à creuser cette possibilité, nous avons surveillé les changements que subissaient les populations de globules blancs, chez les huit Ndamas et les huit Borans, pendant leur deuxième infection par *T congolense*. Tous les jours, nous avons fait le comptage des globules blancs: comptage total et comptage par catégorie, pendant 30 jours, depuis le début de l'infection; deux fois par semaine ensuite pendant 60 jours encore. Nous avons évalué le nombre des lymphocytes, des neutrophiles, des monocytes et des éosinophiles. Nous avons analysé les populations de lymphocytes au moyen des anticorps monoclonaux produits à l'ILRAD, pour nous renseigner sur les sous-groupes de lymphocytes T, les lymphocytes B et les cellules nulles. Les populations de lymphocytes T que nous avons identifiées sont celles qui exprimaient le marqueur pan-T BoT2, les cellules auxiliaires qui exprimaient la molécule BoT4, et les cellules tueuses qui exprimaient BoT8.

Avant leur infection par des trypanosomes, les Ndamas avaient plus de globules blancs au total, plus de lymphocytes T et B, de neutrophiles et de cellules nulles que n'en avaient les Borans; mais il n'y avait pas de grosses différences pour les autres sortes de cellule. Jusqu'au moment où il a fallu traiter les Borans, le total des globules blancs et le total des lymphocytes ont été parallèles chez les deux races; les deux po-

pulations de cellules ont beaucoup diminué entre le début de l'infection et la première pointe de parasitémie, celles des Ndamas restant constamment supérieures (figure 13). Il y a eu diminution parallèle des deux sous-populations de lymphocytes T (celle qui est positive pour l'antigène BoT4 et celle qui est positive pour BoT8). Le nombre des neutrophiles est resté stable pendant toute la période; celui des monocytes et celui des éosinophiles a varié, mais sans tendance reconnaissable.

Le nombre des lymphocytes B a été notablement plus grand chez les Ndamas que chez les Borans depuis l'infection jusqu'à 22 jours plus tard, moment où il a fallu traiter le premier Boran. Pendant ces 22 jours, le nombre des monocytes a varié sensiblement, mais il n'y a eu ni diminution ni augmentation d'ensemble, ni grande différence entre les races. Pendant ces mêmes 22 jours, le nombre des cellules nulles a diminué dans les deux groupes, mais est resté plus grand chez les Ndamas que chez les Borans. En partant de ces constatations, nous allons pouvoir examiner plus en détail les réactions des globules blancs à l'infection par les trypanosomes, et le rôle qu'ils jouent peut-être comme agents de la résistance supérieure des bovins trypanotolérants.

### Poids, gain de poids vif, reproduction

Au moment de la première infection, quand les 12 sujets avaient 13 mois, leur poids était en moyenne de 154 kg pour les Ndamas et 139 kg pour les Borans. Comme il a fallu traiter presque tous les Borans par anticipation après chaque infection, ils ne se sont trouvés infectés que pendant 190 jours sur les 567 qu'a duré l'enquête, tandis que les Ndamas ont tous été dans cet état pendant 432 jours. Malgré cela, quand les bovins, à la fin de la troisième infection, étaient âgés de 32 mois, le poids moyen était analogue chez les deux races: 319 kg pour les Ndamas et 309 kg pour les Borans. Le gain de poids vif par jour était, en moyenne mensuelle, à peu près le même au

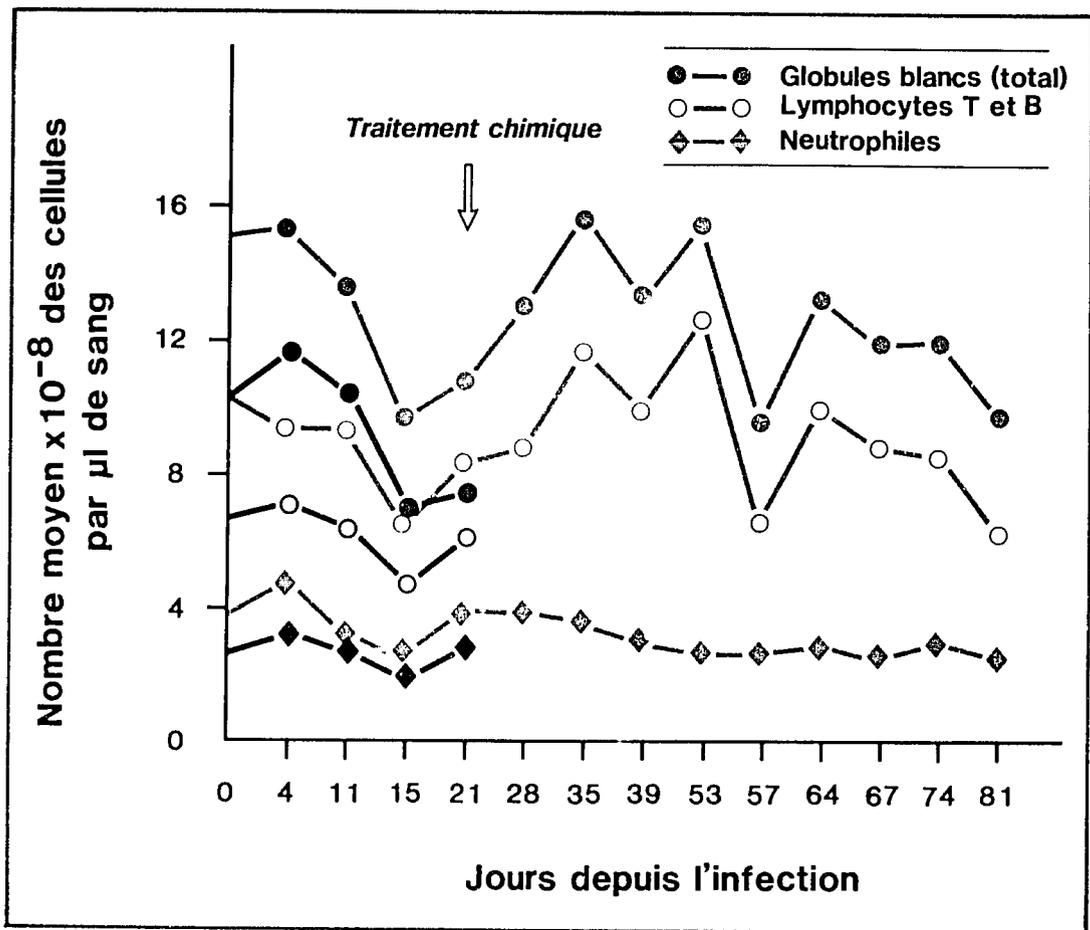


Figure 13. Analyse chronologique du nombre total de globules blancs, de lymphocytes et de neutrophiles par  $\mu\text{l}$  de sang, chez huit Ndamas (bleu) et huit Borans (noir), pendant leur infection par *T. congolense* (IL2642). Les deux races ont fait, vers le quinzième jour, une leucopénie caractérisée par la forte diminution des globules blancs et des lymphocytes (en nombre absolu), le nombre des neutrophiles ne changeant pas beaucoup. Avant l'attaque et pendant toute l'infection, les Ndamas avaient un bien plus grand nombre de globules blancs et de lymphocytes. Nous n'indiquons les totaux, pour les Borans, que jusqu'à 21 jours après l'attaque, moment où nous avons commencé à en traiter un chimiquement.

cours de ces 567 jours: 297 g pour les Ndamas et 302 g pour les Borans.

Chez les deux races, les taureaux ont eu de plus forts gains de poids vif que les génisses, et un plus gros poids final. La trypanosomiase ne semble pas avoir affecté le poids ni le gain de poids vif chez les Ndamas: trois taureaux ndama infectés avaient, à 13 mois et à 32, à peu près le même poids que deux taureaux ndama non infectés qui nous servaient de témoins, et ils ont eu à peu près le même gain quotidien de poids

vif. Au contraire, les Borans infectés et traités ont eu un gain quotidien de poids vif inférieur de 22%, en moyenne, à celui des témoins non infectés.

Les génisses ndama infectées ont manifesté de l'œstre pour la première fois à l'âge de 23 mois, au cours de la deuxième infection par *T. congolense*. Après le traitement et pendant toute la troisième infection, nous avons prélevé du plasma chaque jour et déterminé la quantité de progestérone, pour les génisses ndama comme pour neuf gé-

nisses boran infectées. Chez les Ndamas, nous n'avons pas constaté de différence dans l'activité cyclique entre avant l'infection et pendant l'infection: le cycle durait 20,4 jours ( $\pm 0,2$ ), la phase lutéale était de 12,5 jours ( $\pm 0,3$ ), et la croissance, la fonction et la régression du tissu lutéal étaient sans changement. Au contraire, trois seulement des génisses boran avaient leur cycle au moment de la troisième infection, et elles l'ont arrêté toutes les trois deux ou trois semaines plus tard. Leur activité cyclique a repris irrégulièrement il est vrai, 40 jours en moyenne après le traitement.

## EPIDEMIOLOGIE

### CARACTERISER LES TRYPANOSOMES

Nous avons cherché à mettre au point des épreuves simples, précises et sensibles pour déceler les trypanosomes tant chez les mamifères que chez les glossines, et pour en déterminer l'espèce et le sérodème. Ces travaux sur les méthodes de diagnostic ont une double importance: d'abord pour le diagnostic lui-même, mais aussi quand il s'agit d'évaluer les résultats de la prophylaxie ou du traitement. Disposer de meilleurs moyens de déceler des trypanosomes chez les glossines serait utile aussi, par exemple pour prévoir la gravité du risque de trypanosomiase en un endroit donné, avant d'y amener du bétail sensible.

### Classement sérologique

L'ILRAD a produit, nous l'avons dit, des anticorps monoclonaux qui distinguent les trois principales espèces africaines de trypanosome: *T congolense*, *T vivax* et *T brucei*. On peut s'en servir pour déceler des antigènes trypanosomiques dans le courant sanguin des bêtes infectées. Nous avons aussi, en 1986, employé les anticorps monoclonaux produits contre *T brucei* et *T congolense* pour déceler des trypanosomes dans des spécimens de repas de sang de glossines. Nous travaillons actuellement à isoler

et purifier les antigènes spécifiques que reconnaissent ces anticorps. Notre but est de produire ces antigènes en quantités suffisantes pour le diagnostic de la trypanosomiase et aussi pour la mise au point d'épreuves simples à pratiquer sur le terrain.

Nous cherchons depuis 1982 à trouver de nouvelles méthodes pour identifier les sérodèmes des trypanosomes. Nous nous sommes servis, dans cette recherche, de souches de *T congolense* isolées sur des bovins de Kilifi, dans la province kényenne de la Côte. Une technique qui nous semble prometteuse est celle qui recourt à l'électrophorèse des chromosomes. Les populations de trypanosomes qui appartiennent au même sérodème ont, d'après nos constatations, le même profil de bandes chromosomiques, même quand elles manifestent, au moment de l'épreuve, des GSV différentes.

Nous avons employé la même technique pour caractériser 20 isolats de *T b rhodesiense* pris à des sommeilleux de Busoga (Ouganda). Les résultats de cette épreuve, résultats confirmés par des épreuves d'interneutralisation au moyen de sérums d'infections chroniques, ont montré que les 20 isolats appartenaient sans doute à un seul sérodème. Nous cherchons maintenant à confirmer ces constatations en analysant les antigènes des métacycliques. C'est avec l'Organisation ougandaise de recherches sur la trypanosomiase que nous avons procédé à cette recherche.

### Emploi de sondes d'ADN

Ce qu'il faudrait idéalement pour identifier les trypanosomes sur le terrain serait une méthode spécifique, sensible, facile à appliquer, et dont les résultats seraient sans équivoque. Nous avons, pour identifier les trypanosomes d'Afrique, trouvé, en nous servant de sondes d'hybridation de l'ADN, des méthodes qui répondront à ces critères. Pour obtenir des sondes spécifiques d'ADN, nous sommes partis de *T b brucei*, de *T congolense*, de *T congolense* Kilifi, de *T simiae*, et de populations est-africaines et

ouest-africaines de *T vivax*. Pour obtenir les sondes à employer sur le terrain, nous sommes surtout partis, au début, de *T congolense*.

Nous avons identifié des séquences très répétées d'ADN dans le génome de 15 isolats de *T congolense* qui venaient de six pays d'Afrique, celui de *T congolense* (Kilifi), et celui de *T simiae*, espèce impossible à distinguer morphologiquement de *T congolense*. Nous avons cloné chacune de ces trois séquences, et nous avons pu constater qu'elles s'hybridaient spécifiquement et exclusivement avec l'ADN des trypanosomes de la même espèce ou sous-espèce. Elles ne s'hybridaient pas l'une avec l'autre, ni avec l'ADN d'aucune des autres espèces que nous leur avons présentées. La distinction constante entre *T congolense* en général et *T congolense* Kilifi nous a surpris, ces populations étant morphologiquement identiques.

Nous avons travaillé, en 1986, à rendre ces sondes plus sensibles, capables de déceler une faible parasitémie chez les animaux infectés. Nous y sommes arrivés en clonant les séquences d'ADN sous forme polymère, et en améliorant le plus possible leur marquage et leur hybridation. Nos deux sondes de *T congolense* peuvent déceler 2,5 pg d'ADN de trypanosome au bout de 12 heures, ce qui correspond à 25 individus environ. Au bout d'une semaine, elles peuvent toutes deux déceler l'équivalent, en ADN, d'environ cinq trypanosomes. La sonde de *T simiae*, que nous n'avons pu obtenir que sous forme monomère, peut déceler environ 1.000 trypanosomes au bout de 12 heures, 100 au bout d'une semaine.

Il se peut que, du fait de la diversité génomique de *T congolense*, nos deux sondes de *T congolense* ne découvrent pas tous les trypanosomes, en provenance de divers endroits d'Afrique, qui sont du type *T congolense*. C'est ce que nous travaillons actuellement à vérifier avec tous les isolats de *T congolense* dont nous disposons à l'ILRAD.

Pour obtenir des sondes d'ADN avec les-

quelles déceler l'infection par *T vivax*, nous sommes partis d'abord d'une lignée ouest-africaine de *T vivax*, qui venait du Nigéria, et plus récemment d'une lignée est-africaine isolée à Galana (Kénya). Nous avons, en 1986, contrôlé la spécificité de ces sondes, en nous servant de *T vivax* en provenance du Kénya, de l'Ouganda et du Nigéria, et en prenant pour témoins négatifs *T b brucei*, *T congolense* et *T musculi*. Les deux sondes distinguaient les isolats de *T vivax* des isolats d'autres espèces; mais elles ne distinguaient pas bien clairement entre ceux d'Afrique orientale et ceux d'Afrique occidentale. Nous essayons maintenant ces sondes sur des isolats de *T vivax* qui proviennent de diverses régions d'Afrique, et nous cherchons d'autre part à déterminer leur sensibilité.

En créant ces sondes d'ADN, nous avons pour but, à l'origine, d'avoir un instrument pour déceler les trypanosomes dans des spécimens de sang pris à des bêtes infectées; mais elles se sont aussi montrées utiles pour déceler des trypanosomes chez les glossines. Nos expériences préliminaires nous ont appris qu'on peut facilement découvrir ainsi *T congolense* dans des suspensions de l'intestin moyen des glossines, ou dans leur trompe; qu'on peut découvrir *T b brucei* dans des suspensions de l'intestin moyen ou de la glande salivaire, et aussi, mais non sans difficulté, dans la trompe. Pour ce contrôle, il faut disséquer les organes de la glossine; cette méthode n'est donc guère plus simple que la façon traditionnelle de disséquer la glossine et de l'examiner au microscope. Nous avons fait des recherches, en 1986, pour trouver des méthodes plus commodes à appliquer sur le terrain. La plus simple méthode que nous ayons trouvée est de couper la partie distale de l'abdomen de la glossine, et de vider le contenu de l'abdomen ainsi ouvert sur un filtre de nylon. Les premiers résultats de cette méthode de la «tache abdominale» étant prometteurs, nous envisageons de la mettre à l'épreuve sur le terrain, et de comparer ses résultats avec ceux des méthodes traditionnelles.

## Analyse des isoenzymes et des protéines

Une des façons de discerner la diversité génétique des organismes est de mesurer les différences de mobilité électrophorétique de leurs enzymes. En 1985, nous avons comparé la mobilité électrophorétique des enzymes de plusieurs souches de *Nannomonas* isolées à Kilifi avec celle des enzymes de plusieurs groupes de *T congolense* originaires d'autres régions d'Afrique. Nos analyses de 1986 nous ont appris que les trypanosomes (*Nannomonas*) isolés à Kilifi constituaient un groupe génétique distinct, qui diffère sérieusement d'autres groupes de *T congolense*.

En comparant les protéines radiomarquées des trypanosomes, sur des gels à deux dimensions, nous avons aussi constaté que *T congolense* et *T congolense* Kilifi constituent deux groupes d'organismes qui sont génétiquement distincts. Ce qui nous incite à penser qu'il existerait un large spectre de diversité génétique parmi les trypanosomes qu'on classe actuellement dans l'espèce *T congolense*; il n'est pas impensable qu'il faille reviser la situation taxinomique de ce groupe.

Nous avons analysé, aussi sur gel à deux dimensions, les protéines des formes procycliques de *T b brucei*, *T b rhodesiense* et *T b gambiense*. Comme on pouvait s'y attendre, ces trois sous-espèces de *T brucei* diffèrent notablement des autres espèces de trypanosome; mais il nous a été difficile de discriminer entre elles. Nous sommes arrivés à radiomarquer les protéines de *T vivax*; en les analysant sur gel à deux dimensions, nous avons constaté des différences, quant à leur composition en protéines, entre divers isolats.

Plusieurs laboratoires, après avoir étudié des trypanosomes procycliques élevés *in vitro*, ont cherché à savoir si ces procycliques sont équivalents à ceux qui se développent dans l'intestin moyen des glossines. Nous avons, par l'analyse sur gel à deux dimensions, comparé les protéines de procycliques de *T b brucei* élevés *in vitro* avec

celles de procycliques prélevés sur des glossines. Cette comparaison, jointe à des comparaisons immunologiques, biochimiques, et ultrastructurales, nous ont montré qu'on peut considérer les procycliques obtenus *in vitro* comme équivalents aux formes trouvées dans l'intestin moyen des glossines.

## PRODUCTION DU BETAÏL EN DANGER DE TRYPANOSOMIASE

Produits trypanocides: leur détection et leur contrôle *in vitro*

A cause des problèmes qui se posent quand on veut entreprendre et poursuivre des programmes de maîtrise des glossines, et faute d'un vaccin efficace contre la trypanosomiase, l'élevage dépend presque entièrement, dans les vastes régions d'Afrique qu'infestent les glossines, des produits trypanocides, tant pour prévenir la trypanosomiase que pour traiter les bêtes infectées. Depuis bientôt 30 ans, il n'est pas apparu sur le marché de produit trypanocide nouveau; d'autre part, l'apparition de résistance aux produits chez des populations de trypanosomes a limité le choix de produits actifs qui s'offre aux vétérinaires et aux éleveurs. Un des principaux obstacles auxquels se heurte la création de nouveaux trypanocides à usage médicale ou à usage vétérinaire est qu'essayer ces produits sur des animaux, à titre expérimental, coûte très cher.

Nous nous servons maintenant des systèmes que nous avons mis au point pour cultiver les trypanosomes, à l'ILRAD, pour vérifier, *in vitro*, les effets des trypanocides sur différentes espèces ou souches de trypanosome. Il est certain que l'action qu'un composé trypanocide exerce en laboratoire ne correspond pas toujours avec précision à son action sur le terrain; pourtant, les résultats du contrôle *in vitro* ouvrent de belles perspectives à une meilleure lutte contre la trypanosomiase.

Une de nos recherches de 1986 avait pour but de simplifier notre système de contrôle *in vitro* des effets des trypanocides. Jusqu'ici, contrôle se fait en présence d'une

couche nourricière de cellules. On a pratiqué, ailleurs qu'à l'ILRAD, un système de culture, pour *T. brucei*, qui consiste à cultiver les trypanosomes d'abord sur une couche de cellules nourricières pendant 10 à 20 jours, puis sans ces cellules. Nous avons essayé ce système avec *T. vivax* et *T. congolense*, mais sans succès jusqu'ici.

Nos recherches antérieures nous avaient appris qu'on peut mieux prévoir les réactions des formes sanguines de *T. vivax* et *T. congolense* aux produits trypanocides quand les trypanosomes, après un entier cycle vital *in vitro*, étaient des formes sanguines de «deuxième génération». Mais beaucoup de laboratoires d'Afrique ne sont pas équipés pour garder des trypanosomes *in vitro* d'un bout à l'autre de leur cycle vital. C'est pourquoi nous avons cherché en 1986 à savoir comment contrôler *in vitro* l'action du produit trypanocide en se servant de trypanosomes sanguins prélevés directement sur des souris ou sur des bovins.

Pour mesurer l'action trypanocide, nous calculons dans quelle mesure le produit empêche les parasites de se multiplier, et considérons d'autre part l'effet que ce produit a sur le caractère infectieux des trypanosomes à l'égard des souris. Quand nous avons cherché à mesurer ainsi l'effet trypanocide dans le sérum de bovins auxquels nous avions inoculé du chlorure d'isométymidium («Samorin» de May and Baker), nous avons rencontré une difficulté: le sérum de certains sujets empêchait normalement les trypanosomes de se multiplier et d'être infectieux, même en l'absence du trypanocide. Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre cette propriété inhibitrice et le profil des protéines de ce sérum, ou sa richesse en lipoprotéines de forte densité et de faible densité.

Une de nos expériences a consisté à étudier comment, une fois exposés au sérum de bovins ainsi piqués au chlorure d'isométymidium, les trypanosomes *T. congolense* IL1180, population sensible au chlorure d'isométymidium, perdaient leur pouvoir de croissance et leur caractère infectieux. Nous

avons administré ce produit (0,5 mg/kg) à cinq bœufs boran que nous avons attaqués 30 jours plus tard avec un isolat de *T. vivax* de Kilifi (Kénya), par l'intermédiaire de glossines. Trois de ces bœufs sont tombés malades. Nous avons prélevé du sérum sur ces trois bêtes à plusieurs reprises: juste avant l'administration du produit; le jour de l'attaque avec *T. vivax*; sept jours après l'attaque; 14 jours après l'attaque. Nous avons mis ces spécimens de sérum en incubation avec notre culture de *T. congolense* pendant 24, 48 et 72 heures. Il y a eu dans tous les cas inhibition de la croissance: plus les trypanosomes sont restés longtemps en incubation avec le sérum qui contenait le produit, et plus l'inhibition de la croissance était marquée. Quand nous avons mis les spécimens de trypanosome en incubation pendant 24 heures avec des sérums différents et les avons ensuite injectés à des souris, seuls les sérums prélevés après l'administration du produit empêchaient les trypanosomes d'être infectieux.

Nous avons repris les deux bœufs qui n'étaient pas tombés malades lors de la première expérience, et les avons attaqués une deuxième fois avec le *T. vivax* de Kilifi deux mois après les avoir piqués au chlorure d'isométymidium. Les deux bêtes ont pris l'infection; mais leur sérum prélevé le jour de l'attaque empêchait et la croissance et le caractère infectieux de *T. congolense* IL1180 après 24 heures d'incubation *in vitro*. Il semble donc bien que les populations de *T. vivax* Kilifi se multipliaient, chez les cinq bœufs, en présence d'une concentration du produit qui aurait empêché *T. congolense* de se multiplier et d'être infectieux. Trois mois après les avoir piqués au chlorure d'isométymidium, nous avons attaqué ces cinq bœufs avec *T. congolense* IL1180, par l'intermédiaire de glossines. Aucun d'entre eux n'est tombé malade, ce qui confirme les résultats obtenus *in vitro*.

Poursuivant cette recherche, nous avons entrepris de mesurer la sensibilité de notre technique de contrôle *in vitro*. Chaque semaine, nous avons pris du sérum à trois

veaux auxquels nous avons inoculé une faible dose (0,25 mg/kg) de chlorure d'isomé-tamidium. Nous avons mis en incubation avec ce sérum des formes sanguines de *T congolense* IL1180, et les avons ensuite injectées à des souris. Quand l'incubation avait duré 24 heures, seuls les sérums prélevés sept jours et 14 jours après le traitement au chlorure d'isomé-tamidium empêchaient complètement le caractère infectieux. Quand l'incubation avait duré 48 heures, les sérums prélevés jusqu'à 42 jours après le traitement empêchaient les trypanosomes de devenir infectieux. Ces trois veaux, 42 jours après le traitement, se sont montrés réfractaires à une attaque à la seringue par la même population de *T congolense*.

Nous avons mis en incubation dans les mêmes sérums une population de *T vivax* d'origine nigériane et prélevée sur des bovins; les résultats de l'expérience ont été très inconstants quant au caractère infectieux à l'égard des souris. Cette population de *T vivax* s'est montrée beaucoup plus sensible que *T congolense* IL1180 aux propriétés, favorables ou défavorables à la croissance, du sérum de tel ou tel animal, ce qui dissimulait l'éventuel effet trypanocide de la présence du produit. Quand nous avons élevé chez des souris cette population de *T vivax*, et l'avons ensuite mise en incubation avec le sérum de ces mêmes veaux, tous les sérums prélevés jusqu'à 14 jours après l'administration du produit ont empêché le caractère infectieux d'apparaître chez de nouvelles souris; mais les sérums prélevés plus tard n'y réussissaient pas.

Il ressort des résultats de cette expérience qu'on pourrait employer, comme signe indirect de la résistance (au produit trypanocide) d'une population de trypanosomes, la croissance et le caractère infectieux de cette population dans le sérum d'animaux traités au produit en question. Empêcher l'apparition du caractère infectieux nous paraît offrir un meilleur paramètre (plus sensible) qu'empêcher la croissance; la corrélation est plus étroite avec l'action du produit *in vivo*.

Produits trypanocides; leur détection et leur contrôle *in vivo*

Il est très difficile de traiter la trypanosomiase avec succès une fois que les trypanosomes ont pénétré dans le système nerveux central, parce que très peu de trypanocides peuvent traverser les barrières physiologiques naturelles qui séparent du courant sanguin ce système nerveux central. Si nous comprenions mieux comment agissent les trypanocides et comment ils se répartissent chez l'animal hôte, nous arriverions sans doute à de meilleures méthodes de traitement. Pour attaquer ce problème, nous avons mis au point un système de canulation pour surveiller le fluide cérébrospinal des chèvres, et des contrôles biologiques ainsi que des techniques de chromatographie en milieu liquide de haute performance (HPLC) pour déceler les produits trypanocides. Nous menons cette enquête avec l'appui de l'OMS.

Les chèvres qu'infectent *T b brucei* font une trypanosomiase sub-aiguë qui cause leur mort en cinq à huit semaines; leur système nerveux central est atteint, des lésions de méningite et de choroïdite dans leur cerveau le montrent. Si l'on traite les chèvres atteintes à l'acéturate de diminazène (10 mg/kg), elles souffrent d'une rechute, accompagnée d'une méningo-encéphalite sévère, pareille à celle que l'on constate chez les êtres humains dans les formes avancées de la maladie du sommeil.

Quand nous avons traité à l'acéturate de diminazène (par piqûre intramusculaire) des chèvres non infectées, nous avons pu déceler le trypanocide dans le plasma, mais non dans le fluide cérébrospinal. Le produit avait son maximum de concentration (1 µg/ml) en moins de 24 heures du traitement, concentration qui diminuait vite pendant les cinq jours suivants; huit jours après le traitement, nous pouvions déceler une concentration de 50 ng/ml.

Nous avons fait une recherche analogue avec la suramine («Naganol» de Bayer). Nous avons dénaturé chimiquement des

spécimens de plasma pour extraire et mesurer plus facilement le produit, qui se lie fortement aux protéines du plasma. Cela nous a permis de récupérer environ 30% du produit. Quand nous avons injecté intraveineusement une seule dose de suramine (20 mg/kg) à des chèvres non infectées, nous avons pu, 24 heures plus tard, déceler dans leur plasma une concentration de 10 à 20 µg/ml de ce produit. Dix jours plus tard, il y avait encore des concentrations du produit qui dépassaient le minimum de détection (200 ng/ml); mais nous n'avons pu à aucun moment déceler de la suramine dans le fluide cérébrospinal.

Nous avons pris des chèvres équipées d'une canule, les avons infectées avec *T b brucei*, et les avons traitées à l'acéturate de diminazène ou à la suramine. Nous n'avions à aucun moment pu déceler de la suramine dans le fluide cérébrospinal de chèvres non infectées; nous analysons pourtant maintenant le fluide cérébrospinal de chèvres qui souffrent d'une rechute de l'infection par *T b brucei* et que nous avons traitées à la suramine. Il se peut que la suramine atteigne une concentration trypanocide dans le système nerveux central quand l'infection a lésé la barrière entre le courant sanguin et le cerveau. Nous poursuivons une étude du même genre avec le mélarsoprol («Arsobal» de Spécia), produit trypanocide capable de pénétrer dans le système nerveux central.

Toujours dans le cadre des recherches actuelles qui visent à rendre plus précise la mesure des trypanocides, nous appliquons actuellement des techniques de digestion par enzyme pour aider à leur extraction du plasma et du liquide cérébrospinal. Nous essayons aussi la détection par fluorescence et par radiomarquage pour rendre nos mesures plus précises. Nous mettrons en corrélation les concentrations ainsi décelées et celles que permettent de mesurer les contrôles *in vitro*. Une fois conjuguées, ces méthodes devraient permettre de juger de l'efficacité du traitement appliqué aux animaux infectés.

Produits trypanocides: évaluer la protection conférée

Bien que les trypanocides soient d'un usage général, on est très peu renseigné sur la façon dont ils agissent *in vivo* ou sur les facteurs dont dépendent l'efficacité ou la durée de la protection qu'ils confèrent. Les recherches que nous poursuivons dans ce domaine bénéficient de l'appui de l'Overseas Development Administration (ODA) du Gouvernement britannique. Nos recherches de 1985 nous avaient appris que les bovins traités au chlorure d'isométabidum (1 mg/kg) sont protégés pendant au moins cinq mois contre l'attaque mensuelle de deux sérodèmes, non apparentés, de *T congolense* transmis par des glossines. Elles nous avaient appris aussi:

1. Qu'il y a un rapport direct entre la dose du produit et la durée de la protection conférée.
2. Que, s'il y avait déjà une infection au moment où l'on a traité l'animal, cela ne semble pas influencer sur la protection maintenant conférée.
3. Que l'intensité de l'attaque par les métaacycliques ne semble pas influencer sur la durée de la protection conférée.
4. Que la production d'anticorps ne joue sans doute pas un rôle protecteur chez les bovins soumis à un régime chimioprophylactique, parce qu'il faut, pour susciter la réaction antismatistique chez ces animaux, une attaque métaacyclique bien plus violente que celle à laquelle on peut s'attendre sur le terrain.

Nous avons, en 1986, fait des expériences analogues pour connaître la durée de la protection conférée contre *T vivax* par le chlorure d'isométabidum. Une expérience préliminaire a confirmé que des trypanosomes (*T vivax*) originaires du Kenya et du Nigéria étaient sensibles à ce produit. Nous avons infecté 10 bœufs boran, par l'intermédiaire de glossines, cinq avec un clone de *T vivax* en provenance du Kenya (IL2969) et cinq avec un clone de *T vivax* du Nigéria (IL2968). Onze jours plus tard, nous avons

Lignée de <i>T vivax</i>	Numéro du sujet	Infection constatée	
		Mois	Jours après l'attaque mensuelle
Nigériane (IL2968)	D335	Rien jusqu'à cinq mois	
	D339	Rien jusqu'à cinq mois	
	D343	3	11
	D359	4	11
	D363	4	11
Kényenne (IL2969)	D338	2	7
	D340	2	9
	D347	1	12
	D350	1	23
	D355	1	24

Figure 14. Efficacité de l'emploi de chlorure d'isoméamidium contre l'attaque de *T vivax* chez les bovins domestiques. Nous avons divisé dix bœufs boran d'un an en deux groupes de cinq; nous leur avons inoculé du chlorure d'isoméamidium (0,5 mg/kg), et les avons alors attaqués avec une souche nigériane (IL2968) ou une souche kényenne (IL2969) de *T vivax*. Cette attaque s'est faite au moyen de 10 glossines infectées, mensuellement à partir d'un mois après le traitement chimique. Nous avons aussi attaqué chaque mois, avec l'une et l'autre souche, deux bœufs témoins non traités.

traité les 10 bœufs au chlorure d'isoméamidium (à la dose de 0,5 mg/kg). Il y a eu guérison complète de quatre des bœufs infectés par le clone nigérian et des cinq bœufs infectés par le clone kényen. Nous avons ensuite inoculé à d'autres bœufs boran une seule dose prophylactique (0,5 mg/kg) de chlorure d'isoméamidium, et les avons soumis à l'attaque mensuelle, par l'intermédiaire de glossines, des mêmes clones de *T vivax*; ils se sont montrés complètement protégés contre le clone nigérian pendant au moins deux mois, mais moins d'un mois contre le clone du Kenya (figure 14).

L'étude sérologique nous a montré une corrélation complète entre le début de la parasitémie et l'apparition (décelable) des anticorps; aucun des animaux traités n'a manifesté une réaction immunitaire qui aurait pu contribuer à la protection conférée par le produit. Le sérum de bovins sensibles à l'attaque du *T vivax* du Kenya s'est montré trypanocide, comme il est dit ailleurs, à l'égard de *T congolense* (IL1180) *in vitro*, bien que nous ayons prélevé ce sérum une fois toutes ces bêtes infectées par *T vivax*.

Nous avons cherché à déceler le chlorure d'isoméamidium chez les cinq bœufs tombés malades du fait de *T vivax* du Kenya, et avons pour cela traité ces mêmes sujets avec une dose curative (3,5 mg/kg) d'acéturate de diminazène 75 jours après le traitement au chlorure d'isoméamidium. Nous avons aussi piqué à l'acéturate de diminazène quatre bovins témoins, deux auxquels nous avons inoculé du chlorure d'isoméamidium mais que nous n'avions pas infectés, et deux que nous avons infectés avec le même clone de *T vivax*, mais que nous n'avions pas traités. Nous avons attaqué tous ces bœufs 18 jours plus tard, avec *T congolense* IL1180, par l'intermédiaire de glossines. Tous les témoins sont devenus parasitémiques 17 jours après cette attaque; mais aucun des bœufs qui avaient auparavant été sensibles à l'attaque par le *T vivax* du Kenya ne s'est révélé infecté par *T congolense*, ce qui montre que le chlorure d'isoméamidium était encore chez eux à dose trypanocide.

Voici en résumé les conclusions qu'on peut tirer de ces expériences:

1. Nous n'avons pu déceler de réactions

immunitaires chez les animaux protégés de l'infection par l'administration de chlorure d'isométabidum.

2. Les bœufs attaqués par le *T vivax* de Nigéria étaient pendant deux mois complètement protégés; les bœufs attaqués par la souche kényenne ne l'étaient que pendant moins de quatre semaines.

3. Quand nous nous sommes servis de chlorure d'isométabidum pour traiter l'infection due à l'une ou l'autre population de *T vivax*, ces populations se sont montrées l'une et l'autre pleinement sensibles à la dose de 0,5 mg/kg de ce produit.

On a connu dans le passé des trypanosomes résistants au chlorure d'isométabidum: le système infection plus traitement a permis de le constater. L'expérience que nous venons de rapporter concerne un clone kényen de *T vivax* qui est sensible à l'action thérapeutique du chlorure d'isométabidum (selon sa définition sur le terrain), mais résiste à son action prophylactique. C'est pourquoi nous sommes d'avis que, pour les études futures sur des trypanosomes supposés résistants au chlorure d'isométabidum, il faudra pour bien faire suivre la méthode relative à l'action prophylactique.

## LES GLOSSINES VECTRICES DE LA TRYPANOSOMIASE

La recherche que nous avons conduite en 1985 avec un financement partiellement dû à l'AIEA nous avait permis de mesurer le pouvoir vecteur des mâles sexuellement stériles et des mâles sexuellement féconds de sept espèces de glossine quant à la transmission de souches, tant est-africaines que ouest-africaines, de *T vivax*, *T congolense* et *T b brucei*. La conclusion de cette recherche avait été que les mâles stériles transmettent les trypanosomes avec juste autant de succès que les mâles féconds, et que par conséquent, en lâchant un grand nombre de mâles stériles pour réduire l'infestation des glossines, on pourrait bien augmenter, dans l'endroit en cause, le risque de trypanosomiase.

Pour résoudre ce problème, nous avons

cherché en 1986 à trouver une méthode pour réduire le taux d'infection chez les glossines stériles. Nous avons stérilisé aux rayons gamma des glossines mâles (*G m centralis*), dès leur arrivée à la forme adulte; nous leur avons fait artificiellement absorber du sang qui contenait du chlorure d'isométabidum (8µg/ml), et leur avons fait piquer, deux jours plus tard, des chèvres infectées par *T vivax*, *T congolense* ou *T b brucei*. Ce traitement a réduit à zéro le taux d'infection par *T vivax* ou *T b brucei* chez les glossines arrivées à maturité, et a sérieusement diminué le taux d'infection par *T congolense*. Quand nous avons poussé à 12 µg par ml de sang le dosage du produit, puis avons laissé les glossines piquer des chèvres infectées 10 jours après le traitement, il y a eu une complète absence d'infection par les trois espèces de trypanosome. On peut conclure de cette expérience qu'on pourrait, en donnant aux glossines mâles stérilisées, avant de les lâcher, un repas de sang qui contiendrait du chlorure d'isométabidum, réduire le risque accru de trypanosomiase que va représenter leur lâcher.

On sait assez peu de chose du développement de *T vivax* dans les pièces buccales des glossines, ou de la capacité vectrice des différentes espèces de glossine à l'égard de cette espèce de trypanosome. Nous avons cherché en 1986 à contrôler la capacité vectrice des sept espèces de glossines que nous avons à l'ILRAD, à l'égard de quatre souches de *T vivax*, deux d'Afrique orientale et deux d'Afrique occidentale. Nos deux souches d'Afrique orientale venaient d'une chèvre de Likoni (Kénya) et d'une vache de Galana (Kénya); celles d'Afrique occidentale venaient du Nigéria, l'une d'une vache et l'autre d'une glossine.

Nous avons pris des glossines mâles dès leur arrivée à l'état d'*imago* et leur avons fait piquer pendant 24 jours des veaux boran infectés par les quatre souches en question; nous les avons alors disséquées pour déterminer les taux d'infection. Pour les deux souches est-africaines, le taux d'infection a été fort chez *G m centralis* et *G brevipalpis*,

allant de 36,2% à 75,3%. Chez les cinq autres espèces de glossine (*G austeni*, *G palpalis palpalis*, *G p gambiensis*, *G fuscipes fuscipes* et *G tachinoides*), le taux d'infection a été faible, allant de 0% à 5%. En revanche, le taux d'infection des deux souches ouest-africaines a été très fort chez toutes les espèces de glossine: de 55,5% à 97,1%.

Nous avons trouvé dans l'intestin moyen des glossines des enzymes fibrinolytiques, qui probablement contribuent à protéger les glossines des effets éventuellement dangereux de la coagulation de leur repas de sang. Nous avons, en collaboration avec l'Université de Nairobi, identifié cinq enzymes fibrinolytiques chez les glossines, purifié les deux plus actives, et constaté qu'il s'agit de protéases du sérum. Des lapins immunisés contre une de ces enzymes ont produit des anticorps qui interréagissaient avec l'autre, ce qui donne à penser que ces deux enzymes ont en commun certains déterminants antigéniques. Pourtant, ces anticorps ne bloquent pas l'action fibrinolytique des enzymes en question sur des substrats synthétiques, ce qui voudrait dire que nos anticorps ne s'adressent pas aux sites actifs des enzymes. Nous poursuivrons nos recherches dans ce domaine en collaboration avec l'CIPEA.

#### RESEAU AFRICAÏN DU BÉTAIL TRYPANOTOLERANT

L'ILRAD et le CIPEA participent au réseau qui, en Afrique occidentale et centrale, étudie l'état de santé et la productivité de bovins, ovins et caprins, typanotolérants ou non, qui sont exposés à un plus ou moins grand risque de trypanosomiase du fait des mouches tsé-tsé. Les recherches de ce Réseau ont lieu en 11 endroits (trois au Zaïre, deux au Togo, deux en Côte-d'Ivoire, deux en Gambie, un au Gabon et un au Nigéria), ainsi qu'en deux annexes (une au Kenya et une en Ethiopie). Des recherches vont aussi s'entreprendre au Sénégal, au Bénin et en Guinée. Dans tous ces pays, nous conduisons nos recherches en étroite

collaboration avec les éleveurs et avec le service officiel de l'élevage. Le CIPEA a publié en 1986 un rapport qui renseigne en détail sur le Réseau et sur chacune de ses stations.

Le Réseau s'intéresse particulièrement aux races de *Bos taurus* indigènes de l'Afrique occidentale qui se sont montrées résistantes à l'infection due aux trypanosomes: les Ndamas et les Shorthorns ouest-africains. Nous pouvons, dans certaines des stations de recherche, comparer l'état de santé et la productivité de ces races avec ceux de bovins plus sensibles élevés dans les mêmes conditions. Nous constatons aussi chez les races locales de moutons et de chèvres une certaine résistance à la trypanosomiase.

Certaines des stations du Réseau pratiquent des stratégies de lutte contre la trypanosomiase, telles que le traitement préventif régulier au moyen de trypanocides, en conçoignent les résultats, qu'elles analysent. On consignera aussi, dans le cadre du Réseau, les résultats des programmes de lutte contre les glossines.

La part de l'ILRAD dans ce programme général est de former et diriger des spécialistes de cette surveillance des populations de glossines, de ce contrôle des taux d'infection par trypanosomes chez les glossines et chez les animaux ainsi que de l'état de santé du cheptel sur lequel porte toute l'étude. Le CIPEA aide à rassembler des données sur la production des bêtes et sur leur nutrition; c'est à lui qu'il incombe de traiter et analyser les données relatives à la santé et à la productivité.

Comme il est essentiel que les différentes stations rassemblent et analysent avec la plus grande précision les données pertinentes, les agents d'exécution qui travaillent pour le Réseau reçoivent une formation intensive et sont l'objet d'une attentive surveillance. Il y a chaque année à l'ILRAD deux stages de formation de sept semaines, l'un en anglais et l'autre en français. Arrivée la fin de 1986, 53 membres du personnel du Réseau avaient reçu une formation à l'ILRAD.

Pays	Endroit	— Attaque moyenne des glossines —			
		1984	1985	1986	Ensemble
Zaïre	Mushi	16.8	155.7	46.0	72.8
Côte-d'Ivoire	Boundiali	14.1	18.2	46.2	26.2
Ethiopie	Tolley	—	—	22.9	22.9
Kénya	Muhaka	30.4	10.2	6.8	15.8
Gabon	OGAPROV	7.5	11.8	5.9	8.4
Togo	Sokodé	—	4.0	8.4	6.2
Ethiopie	Ghibé	—	—	3.9	3.9
Zaïre	Idiofa	—	—	3.2	3.2
Côte-d'Ivoire	Tengréla	7.4	1.1	0.4	3.0
Togo	Avétonou	—	0.2	0.1	0.2
Zaïre	Kolo	0.0	0.0	0.3	0.1

Figure 15. Moyenne de l'attaque des glossines dans 11 stations de recherche du Réseau africain du bétail trypanotolérant. Ce chiffre est le produit de la densité relative des glossines (nombre des glossines par piège et par jour) et du taux d'infection par trypanosomes dans la population des glossines.

A huit stations, dans cinq pays, ont pris fin en 1986 les études relatives au bétail trypanotolérant: bovins, ovins, caprins. Elles rassemblaient les renseignements recueillis depuis deux ans sur les facteurs dont dépend la morbidité par trypanosomiase et sur les effets que cette infection exerce sur la santé du bétail et sa productivité. Le rapport publié par le CIPEA à la fin de 1986 indique les résultats obtenus de 1983 à 1985.

La densité des glossines et leur taux d'infection

Dans les 11 stations du Réseau, nous avons identifié neuf espèces de glossine: *Glossina fuscipes*, *G tachinoides*, *G palpalis*, *G tabaniformis*, *G nashi*, *G brevipalpis*, *G pallidipes*, *G austeni* et *G morsitans submorsitans*, qui représentent les trois principaux groupes taxinomiques de *Glossina*: *morsitans*, *palpalis* et *fusca*.

Toutes les stations du Réseau mesurent la densité des glossines pendant cinq à 10 jours de suite tous les mois, au moyen de pièges biconiques. Elles expriment cette densité par le nombre moyen des glossines prises par piège chaque jour. Les chiffres consignés se traduisent par une «densité relative», selon une technique normalisée que chaque station suit pour faciliter la comparaison. Cette

«densité relative» est fonction de la densité réelle des glossines, de la façon dont elles se comportent et se nourrissent, de la position des pièges, et du temps qu'il fait. La densité relative est plutôt faible dans toutes les stations du Réseau: sa moyenne générale allait, de 1984 à 1986, de 5,9, à Mushi (Zaïre), à 0,1, à Avétonou (Togo).

Les agents du Réseau dissèquent et examinent la trompe, l'intestin moyen et la glande salivaire des glossines capturées, pour déterminer l'espèce des trypanosomes et le taux d'infection. Ce taux d'infection est plutôt fort dans beaucoup de stations du Réseau: la moyenne de trois ans va de 16,1%, à la station OGAPROV du Gabon, à 0,4%, à la station de Kolo du Zaïre. D'une façon générale, le taux d'infection des glossines est fort dans les stations où la morbidité par trypanosomiase est forte: le bétail est connue comme forte; c'est à quoi on pouvait s'attendre là où les glossines se nourrissent surtout du sang d'animaux domestiques.

Pratiquement toutes les infections par trypanosomes que nous décelons chez des glossines sont dues à *T congolense* ou à *T vivax*. Les infections du type *vivax* sont fortement prédominantes chez les glossines du groupe *palpalis* (*G palpalis* et *G tachinoides*) et

chez *G tabaniformis* et *G nashi*, du groupe *fusca*. Les infections du type *congolense* prédominent chez *G brevipalpis*, elle aussi du groupe *fusca*, et chez *G pallidipes* et *G austeni*, du groupe *morsitans*. D'une façon générale, ces constatations du Réseau s'accordent avec les conclusions d'autres études.

### Evaluation du danger des glossines

Nous avons procédé à une évaluation préliminaire du danger des glossines pour les 11 stations du Réseau, d'après la densité relative des glossines et le taux moyen de leur infection par des trypanosomes. La figure 15 rassemble les résultats de cette évaluation. On peut voir que le danger est faible (sauf à Mushi, au Zaïre); c'est à quoi on pouvait s'attendre s'agissant d'endroits où l'élevage est économiquement viable.

D'autre part, nous analysons les repas de sang des glossines, pour mieux comprendre comment elles se nourrissent. Ces analyses nous permettront de préciser nos évaluations du danger des glossines en tenant compte de la proportion, dans les repas des glossines, du sang des animaux que nous étudions. Nous avons, en 1986, recueilli 659 repas de sang de stations du Réseau situées en Côte-d'Ivoire, au Gabon, en Gambie, au Kenya, au Togo et au Zaïre, pour les analyser à l'ILRAD. Nous avons produit des anticorps monoclonaux pour identifier les repas de sang qui viennent de bovidés (vache, buffle), d'alcéphinés (gnou, bubales: *hartebeest*, *kongoni*, topi), de tragélapthinés (guib, taurotrague), d'antilopinés (impala, gazelle de Thompson gazelle de Grant), de caprinés (chèvre, mouton), de suidés (phacochère, potamo-chère, porc domestique), et de reptiles.

Plusieurs facteurs compliquent la comparaison entre stations: différences dans la capacité vectrice des diverses espèces de glossine, par exemple, ou possibilité de la transmission mécanique de trypanosomes par la morsure de mouches d'autres familles.

### Infection du bétail par les trypanosomes

Dans les huit stations du Réseau qui ont terminé une part de leur enquête en 1986, la morbidité par trypanosomiase était analogue chez les deux races bovines trypanotolérantes (de 7,3% à 11%), et plus faible chez elles que chez les races sensibles (de 25,9% à 30,6%), les hybrides se plaçant à mi-chemin (de 15,2% à 16,5%). Là où l'on élevait ensemble plusieurs sortes de bétail, la morbidité était analogue chez les chèvres et chez les moutons, mais elle était plus forte chez les bovins.

Nous comparons nos calculs du danger des glossines, chaque mois et dans chaque station du Réseau, avec la morbidité (constatée) par trypanosomiase et avec l'apparition de nouvelles infections dans le cheptel. Nous constatons une corrélation positive d'ordre général entre la moyenne annuelle du danger des glossines, dans sept stations du Réseau, et la morbidité par trypanosomiase chez les bovins trypanotolérants (figure 16). La corrélation est analogue quand il s'agit de moutons. Il se peut que les méthodes que nous employons pour évaluer le danger des glossines et déceler l'intensité de la morbidité du bétail ne soient pas assez sensibles pour traduire une corrélation entre moyennes mensuelles d'une station donnée, sauf dans le cas de gros changements. L'analyse détaillée des résultats de Boundiali et de fengréla (Côte-d'Ivoire), a bien montré l'importance de facteurs locaux, tels que l'étendue des déplacements des troupeaux, les pièges à glossines à proximité des troupeaux, la fréquence des traitements trypanocides consignés ou non, et la sensibilité variable des diverses races.

Pour identifier les espèces de trypanosome, nous examinons directement le sédiment blanchâtre, et nous avons des frottis de sang, colorés. Pour classer les trypanosomes qui infectent les glossines, trois groupes: le type *vivax*, le type *congolense*, le complexe *T brucei*. Les méthodes dont nous nous servons ont leurs faiblesses: elles surestiment un peu les infections du type *congolense* et

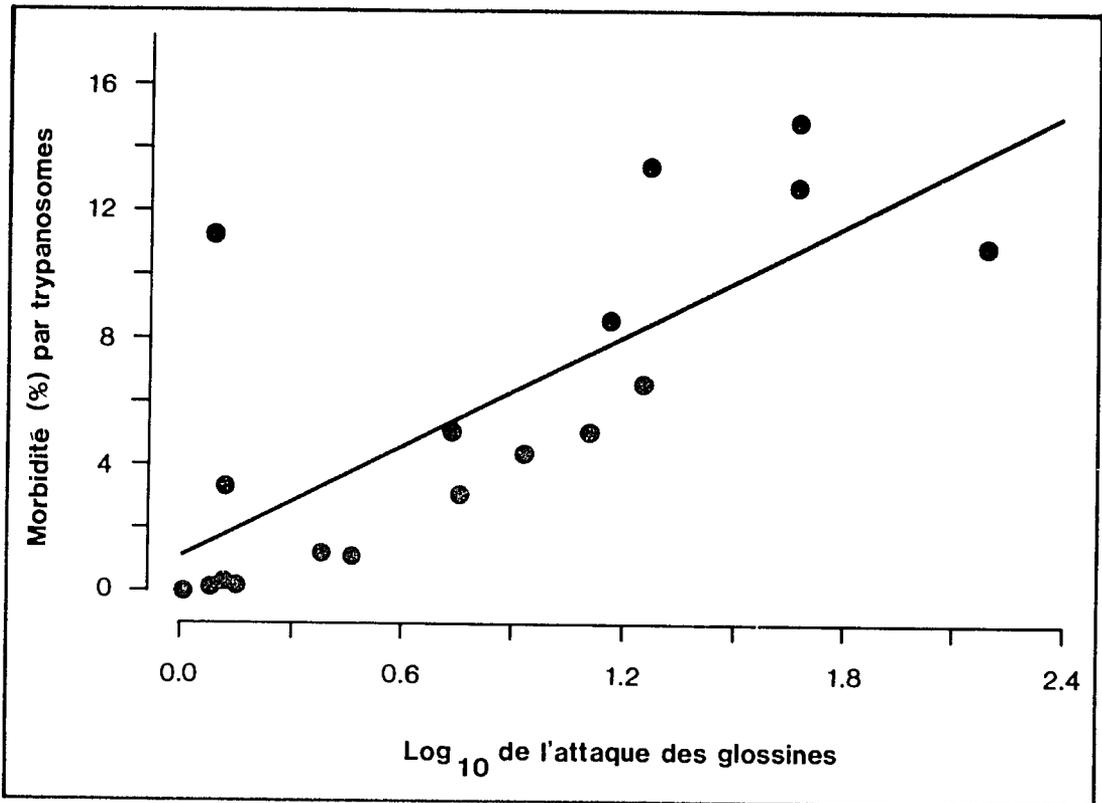


Figure 16. Comparaison de l'attaque des glossines et de la morbidité par trypanosomiase chez les bovins trypanotolérants en huit endroits du Réseau africain du bétail trypanotolérant. La corrélation est positive. Nous avons pris les moyennes annuelles de 1984, 1985 et 1986 pour Mushi et Kolo (Zaïre), et Boundiali et Tengrela (Côte-d'Ivoire). Nous n'avons que les moyennes annuelles de 1984 et 1985 pour la station OGAPROV (Gabon), de 1985 et 1986 pour Avétonou (Togo), et de 1986 pour Idiou Plateau et Idiou Forêt (Zaïre); soit au total 18 situations à comparer.

sous-estiment un peu *T b brucei*. Pendant deux ans, à sept stations, *T congolense* dominait chez les bovins, mais *T vivax* chez les moutons et les chèvres.

Le taux d'infection des bovins selon leur âge dépend, à notre avis, du régime de gestion du bétail: quand on gère à peu près de la même façon tous les groupes d'âge, les cas de trypanosomiase sont d'une fréquence analogue chez tous. D'une année à l'autre, la morbidité par trypanosomiase diffère notablement chez les bovins, mais nous n'avons clairement distingué des différences saisonnières qu'en une seule station: à Boundiali (Côte-d'Ivoire).

#### Anémie

L'anémie est un des signes cliniques les plus importants de la trypanosomiase. Les agents du Réseau mesurent l'hématocrite—sûr indicateur de l'anémie—de toutes les vaches et tous les veaux sur qui porte l'étude. Par analyse régressive, nous avons trouvé un rapport constant entre l'infection par trypanosomes et l'hématocrite moyen: l'infection est fortement liée à la baisse de l'hématocrite. L'importance de cette baisse est proportionnelle à la durée de l'infection, ce qui donne à penser que des infections continues ou répétées pourraient bien avoir pour l'anémie un effet cumulatif, au moins en

partie. Que le trypanosome auteur de l'infection chez les bovins soit *T congolense* ou *T vivax*, rien n'indique qu'une espèce cause une anémie plus grave que l'autre.

### Reproduction et poids vif

Une station de recherche du Gabon a pu constater que la trypanosomiase nuit sérieusement au pouvoir de reproduction des vaches (la saison de reproduction n'y dure que trois mois). Au Zaïre, dans une station où il y a reproduction toute l'année, la fécondité des vaches infectées était quelque peu réduite. On n'a pu y attribuer directement qu'à l'infection la diminution de leur taux de vêlage, et non à une perte de poids qui serait concomitante. De façon constante, une bonne fécondité est allée de pair avec un hématoците élevé.

On a coutume de signaler la perte de poids et le rabougrissement parmi les principaux effets que la trypanosomiase a sur les bovins. Or cette maladie n'a pas eu d'effet marqué sur le poids vif ou le changement de poids des bovins trypanotolérants observés en cinq des stations du Réseau.

### La productivité des Ndamas en Gambie

Dans le cadre du Réseau africain du bétail trypanotolérant, le CIPEA et l'ILRAD avaient, en 1985, entrepris en Gambie une recherche financée par la CEE. Il s'agissait d'étudier la productivité des bovins trypanotolérants dans l'élevage villageois. Cette recherche se fait en étroite collaboration

avec la recherche sur les glossines que finance l'ODA, ainsi qu'avec la vaste opération de progrès de l'élevage que finance la BAD. Ces trois travaux de recherche vont avoir pour base le Centre international de la trypanotolérance, qui vient de se fonder.

Un inventaire épidémiologique préliminaire a eu lieu à la fin de 1985; les contrôles réguliers ont commencé en janvier 1986; ils portent sur un total de 1.000 Ndamas, élevés dans deux villages: Gunjur, où l'attaque de la trypanosomiase (transmise par *G palpatis gambiensis*) est faible, et Kénéba, où l'infestation des glossines (*G morsitans submorsitans*) est modérée. Le domaine de cette étude s'est élargi en juin de façon à inclure 500 bovins dans les villages de Pirang et de Jattaba, où l'on estime que l'infestation des glossines est plutôt modérée.

L'équipe CIPEA/ILRAD étudie l'état de santé et la productivité des bêtes sur lesquelles porte l'étude, en contrôlant la morbidité par trypanosomiase; l'anémie que traduisent les hématoцитеs; la productivité que traduisent les taux de vêlage, les changements de poids, la production laitière; la présence d'anticorps antitrypanosomes; et la fréquence d'autres maladies infectieuses. L'équipe financée par l'ODA rassemble des données sur la répartition et la densité des glossines et sur leur taux d'infection par des trypanosomes dans les quatre endroits de l'étude.

La figure 17 donne les résultats préliminaires des 10 premiers mois de rassemblement des données dans deux de ces endroits.

Groupe d'âge (moyenne)	Pourcentage d'infection		Hématocyte(%)		Poids en kg	
	Gunjur	Kénéba	Gunjur	Kenéba	Gunjur	Kénéba
Avant sevrage	0.4	3.0	26.3	25.4	58.8	55.5
Après sevrage	0.4	1.7	27.2	25.7	138.7	133.4
Jeunes adultes	2.0	5.1	29.2	26.6	237.4	218.3
Vieux adultes	1.1	4.2	26.2	24.0	249.6	223.8

Figure 17. Moyennes du taux d'infection par trypanosomes, de l'hématocyte et du poids chez des bovins ndama de quatre groupes d'âge à deux stations de Gambie: Gunjur, où la densité des glossines est faible, et Kénéba, où elle est modérée.

Production de lait (kg)	Gunjur	Kénéba
Lait destiné à la consommation humaine	272.4	260.3
Croissance de veaux	39.9	27.7
Lait consommé par les veaux (chiffre estimatif)	<u>359.1</u>	<u>249.3</u>
Production totale de lait (chiffre estimatif)	631.5	509.6

Figure 18. Lait destiné à la consommation humaine et lait consommé par les veaux (chiffre estimatif) nés de vaches ndama aux villages de Gunjur et de Kénéba (Gambie). Les chiffres de production (lait et veaux) sont des moyennes relatives à 69 vaches observées pendant huit mois en 1986.

Comme on pouvait s'y attendre d'après les taux d'infestation, la trypanosomiase est plus fréquente à Kénéba qu'à Gunjur. Cette morbidité coïncide avec de plus faibles hématoctrites et de plus faibles poids moyens, pour tous les groupes d'âge. C'est chez les jeunes adultes, âgés de trois à neuf ans, que la morbidité par trypanosomiase était la plus forte; mais c'est chez les bêtes âgées de 10 ans et davantage que l'hématoctrite était la plus faible. Les variations constatées mensuellement dans le gain de poids tiennent surtout, selon nous, à des facteurs de nutrition.

Nous avons calculé la production laitière d'après un échantillon de 69 vaches aux deux villages, pendant une période de huit mois. Nous avons évalué le lait consommé par les veaux d'après leur croissance, selon la formule classique: 9 kg de lait correspondent à 1 kg de croissance du veau; et

nous avons ajouté cette évaluation au chiffre du lait fourni à la consommation humaine. Le total de la production laitière a été remarquablement haut dans les deux villages, comme le montre la figure 18. Le rapport entre le lait trait pour la consommation et le lait bu par les veaux a été en moyenne de 47 à 53.

Nous avons analysé les anticorps spécifiques anti-trypanosomes dans un échantillon de 1.000 bovins des quatre villages de l'étude. Nous avons trouvé une forte concentration d'anticorps chez la plupart des vieux animaux, mais très peu d'anticorps spécifiques anti-trypanosomes chez les animaux de moins de cinq ans. La concentration des anticorps variait selon les endroits, selon les saisons et selon les espèces de trypanosome. Certains sujets dotés d'anticorps à un certain moment de notre étude n'en montraient pas six mois plus tard.

# SERVICES DE FORMATION ET D'INFORMATION

## FORMATION

L'œuvre de formation de l'ILRAD prend plusieurs formes: programmes individuels pour chercheurs ou pour techniciens venus de laboratoires ou de postes sur le terrain, d'Afrique ou d'autres régions en développement, formation supérieure pour des licenciés qui visent la maîtrise ou le doctorat, postes de formation post-doctorale pour renforcer les connaissances professionnelles et l'expérience de jeunes chercheurs venus de bien des pays. Outre cette formation individuelle, il y a chaque année des stages, congrès ou cercles de formation sur des sujets étroitement liés aux recherches de l'ILRAD. Il s'agit essentiellement, dans toutes ces opérations de formation, de développer, dans tous les pays d'Afrique où la trypanosomiase et la FCO représentent de gros problèmes de santé animale, la recherche vétérinaire et les moyens de lutter contre ces maladies. Les dépenses de formation constituent près de 10% du budget total de l'ILRAD.

En 1986, 22 chercheurs ou techniciens sont venus étudier à l'ILRAD pendant des périodes qui allaient d'une semaine à deux mois. Nous avons organisé pour eux des programmes individuels selon les besoins des institutions qui nous les envoyaient. Les pays d'Afrique qu'énumère la figure 19

nous avaient envoyé 19 d'entre eux. Deux avaient le parrainage de la FAO, un celui de la DSE/GTZ (Deutsche Stiftung für internationale Entwicklung/Gesellschaft für technische Zusammenarbeit), le reste celui de l'ILRAD. Tous dépendaient chez eux d'une université, d'un centre de recherches ou du service vétérinaire. Il y a eu en outre trois stagiaires parrainés par des universités de pays développés; deux venaient d'Italie, un des Etats-Unis.

Certains des stagiaires combinent leur travail à l'ILRAD avec une formation dans d'autres centres de recherche de la région de Nairobi, comme l'ICRAC, l'Institut kényen de recherche agricole et le Laboratoire kényen de recherche vétérinaire. Ce genre de formation en collaboration se généralise entre les centres de recherche du Kenya dont les objectifs de lutte contre les maladies sont apparentés.

Il y a eu à l'ILRAD, en 1986, 15 étudiants licenciés, titulaires d'une bourse d'études d'une durée d'un à quatre ans (figure 19). Il y a eu aussi trois boursiers temporaires, pendant de plus courtes périodes. Ces boursiers d'études travaillent avec des chercheurs de l'ILRAD sur des sujets étroitement liés à notre programme de recherches. L'ILRAD a financé les 14 bour-

Pays	1985	1986	Pays	1985	1986
<b>Formation technique spécialisée</b>					
Burundi	2	2	Somalie	—	2
Burkina-Faso	1	—	Tanzanie	—	2
République centrafricaine	—	1	Ouganda	2	—
Ethiopie	1	2	Zambie	2	—
Kénya	2	5	Zimbabwe	2	2
Nigéria	2	1	Italie	—	2
Rwanda	—	2	Etats-Unis	—	1
<b>Formation de licenciés</b>					
Ghana	1	1	Belgique	1	—
Kénya	10	8	Italie	2	2
Nigéria	1	2	Allemagne fédérale	1	—
Soudan	—	1	Pays-Bas	1	1
Tchad	1	—	Royaume-Uni	1	1
Ouganda	1	1	Etats-Unis	1	—
Zaire	1	1			
<b>Formation post-doctorale</b>					
Kénya	2	3	Allemagne fédérale	1	1
Rwanda	1	—	Irlande	—	1
Australie	—	1	Japon	1	—
Belgique	1	—	Royaume-Uni	1	2
France	1	1	Etats-Unis	5	4

Figure 19. Formation individuelle à l'ILRAD en 1985 et 1986. Nombre des participants aux différentes sortes de formation, par pays d'origine.

siers d'études qui venaient de pays d'Afrique; six d'entre eux bénéficiaient aussi du soutien de leur pays, un du soutien des Pays-Bas, et un du soutien de l'OMS. Quatre boursiers d'études venus de pays développés recevaient d'ailleurs leur financement. En plus des boursiers d'études qu'il accueillait à Nairobi, l'ILRAD a envoyé aux Etats-Unis, pour des études avancées, un Kényen qui travaille à l'opération «Faune» de l'ILRAD et du Laboratoire kényen de recherche vétérinaire.

Il y a depuis 1985 à l'ILRAD des boursiers d'études avancées. De jeunes chercheurs qui travaillent dans des universités ou instituts de recherche, d'Afrique principalement, viennent passer plusieurs mois à l'ILRAD pour enrichir leur expérience de la recherche. En 1986, ces boursiers étaient trois: un du Kénya, un de l'Ouganda, un de la Tanzanie.

L'ILRAD engage internationalement ses boursiers titulaires du doctorat, mais cherche surtout à avoir de jeunes chercheurs bien qualifiés qui viennent de pays d'Afrique. Ils passent normalement deux ans au Laboratoire, à des travaux qui doivent contribuer directement à son programme de recherches. En 1986, il y avait à l'ILRAD 13 boursiers titulaires du doctorat: quatre des Etats-Unis, trois du Kénya, deux du Royaume-Uni, et un de chacun des pays suivants: Allemagne fédérale, Australie, France et Irlande.

Outre cette œuvre de formation individuelle, l'ILRAD a organisé en 1986 cinq stages de formation. Un stage d'un mois qui a eu lieu en avril concernait le diagnostic des maladies hémotropiques des bovins, et particulièrement de la fièvre de la Côte orientale. Les 17 participants venaient des pays suivants: Burundi, Ethiopie, Kénya, Mozambique, Ouganda, Rwanda, Somalie, Sou-

dan, Tanzanie, Zambie, Zimbabwe. Un d'entre eux travaillait avec le BIRA/OUA, un autre pour une opération PNUD/FAO, les autres venaient d'universités, centres de recherche ou services vétérinaires de leur pays.

Il y a eu, en avril et mai, un stage de deux mois sur la trypanosomiase et autres maladies parasitaires. Il s'adressait aux agents anglophones d'exécution du Réseau africain (CIPEA/ILRAD) du bétail trypanotolérant. Les cinq participants venaient d'Ethiopie, du Kenya, de Gambie et du Nigéria. En octobre et novembre, il y a eu un second stage, cette fois-ci surtout pour le personnel francophone du Réseau. Quatre participants venaient de stations du Réseau situées au Gabon, en Côte-d'Ivoire et au Zaïre, les deux autres de la République centrafricaine et du Rwanda.

De septembre à novembre, il y a eu à l'ILRAD un stage de trois mois sur la préparation et l'emploi de réactifs pour le diagnostic des maladies bovines à hématozoaires. Il comptait neuf participants, venus de laboratoires vétérinaires nationaux ou d'universités du Burundi, du Kenya, du Mexique, du Mozambique, du Nigéria, de l'Ouganda, du Rwanda, du Sénégal et de la Somalie.

Il y a eu en novembre, sous le double patronage de la FAO et de la Section de la santé et de la production des animaux (AIEA), un stage de formation d'un mois sur l'emploi d'immunocontrôles radiologiques et enzymatiques dans les études sur la reproduction des animaux et sur le diagnostic de leurs maladies. Le stage avait lieu à l'Université de Nairobi, à l'Institut kényen de recherche agricole et à l'ILRAD; le Service de formation de l'ILRAD était chargé de son administration financière. Il y a eu 15 participants, venus des services de recherche vétérinaire du Bénin, du Burkina-Faso, du Burundi, du Ghana, du Kenya, du Mali, du Nigéria, de la Somalie, du Soudan, de la Tanzanie et de la Zambie.

Des chercheurs de l'ILRAD ont, en 1986, enseigné aux deux stages organisés à

l'ICIPE sur les tiques et les glossines, et des membres de ces stages ont visité l'ILRAD. Le Laboratoire, d'autre part, a procuré du matériel de formation à l'Université de Nairobi, au Laboratoire australien de recherche vétérinaire, et à la GTZ.

Des techniciens de laboratoire de l'ILRAD peuvent être admis à suivre, au Kenya Polytechnic, des programmes de formation de deux ou trois ans qui mènent au diplôme (ou au diplôme avancé) de technologie du laboratoire médical. Six techniciens de l'ILRAD ont bénéficié de cet avantage en 1986; trois ont obtenu, à la fin de l'année, le diplôme avancé.

## REUNIONS

Il y a eu en octobre à l'ILRAD une réunion internationale d'étude sur l'échange génétique chez les trypanosomes: les participants venaient du KETRI, du Laboratoire de recherche vétérinaire, de l'ICIPE et de l'ILRAD; il y avait aussi 22 spécialistes éminents venus du monde entier. La possibilité d'un échange génétique chez les trypanosomes, qu'il se fasse sexuellement ou autrement, a de profondes répercussions sur l'épidémiologie de la trypanosomiase, surtout quant à l'évolution de la diversité antigénique et à la diffusion de la résistance aux trypanocides. L'Institut tropical suisse ayant récemment réussi à obtenir des trypanosomes hybrides, plusieurs laboratoires ont pu engager des recherches très actives. La plupart des spécialistes de la question étaient venus à cette réunion d'étude pour rendre compte de leurs dernières observations et en débattre. Les Services d'information de l'ILRAD ont publié le compte-rendu sommaire de cette réunion d'étude.

Au long de l'année, les chercheurs de l'ILRAD et ceux qui y travaillent temporairement tiennent des colloques où ils font connaître les résultats de leurs recherches du moment; ils invitent à ces colloques les chercheurs d'autres institutions de recherche de la région de Nairobi. En 1986, il s'est tenu à l'ILRAD 37 colloques de ce genre;

13 concernaient la trypanosomiase, 10 la FCO, et 14 des sujets connexes.

D'autre part, l'ILRAD met ses installations de conférence à la disposition des réunions ou stages patronnés par d'autres organisations. Notons, pour 1986, les réunions suivantes: les stages de formation organisés par le CIPEA et par le Centre international de la pomme de terre (CIP); le colloque organisé, au sujet de la volaille, par le Ministère de l'agriculture des États-Unis; les réunions de l'Association vétérinaire du Kenya, de la Société de production animale du Kenya et du Ministère kényen du progrès de l'élevage; la réunion scientifique de l'Association vétérinaire du Kenya et de la «Famille» de Nairobi; la réunion d'étude patronnée par le Programme d'appui aux recherches conjointes sur les petits ruminants.

## SERVICES D'INFORMATION

En 1986, les Services d'information de l'ILRAD ont publié le Rapport annuel (*ILRAD 1985*), les quatre bulletins trimestriels, *ILRAD Actualités*, ainsi que le bulletin hebdomadaire *ILRAD Internal Newsletter*. Le Rapport annuel et les bulletins trimestriels paraissent en anglais et en français, le bulletin hebdomadaire en anglais et en souahéli.

La Cambridge University Press a publié en 1986 le recueil des communications faites à une conférence internationale tenue à l'ILRAD. Ce volume de 570 pages, *The Ruminant Immune System in Health and Disease*, traite du système immunitaire des ruminants domestiques, et en particulier de leurs dispositifs d'immunité et de résistance à l'égard des maladies infectieuses. C'est W.I. Morrison, chercheur de haut grade à l'ILRAD, qui avait présidé à la rédaction de ce livre, avec l'appui de nos Services d'information.

L'ILRAD a publié un autre recueil de communications: *Immunization against East*

*coast fever: report of a workshop on collection, handling and analysis of performance and productivity data*; il rend compte des débats du colloque international tenu en septembre 1985. Nous avons aussi fait paraître en 1986 la liste mise à jour des textes publiés par des membres de l'ILRAD en 1984 et 1985, et la liste partielle des publications de 1986. C'est aussi le département des services d'information qui a contribué—tant pour la rédaction que pour la production—à trois documents administratifs, celui qui concerne le programme et le budget de l'ILRAD (document annuel), et ceux qui concernaient l'examen externe des programmes et de la gestion.

Nous avons achevé en 1986 notre première production audiovisuelle. Il s'agit d'un ensemble cassette-diapositives qui expose la création de l'ILRAD et son développement, ainsi que son œuvre de recherche et de formation. Nous le projetons dès maintenant devant beaucoup de nos visiteurs. Le Gouvernement japonais nous a fait don, en 1986, d'un équipement de vidéo: caméras, magnétophones, outillage de cinématographie microscopique, matériel de revision, de projection et d'écoute. Nous avons déjà produit de courts documentaires sur la culture des trypanosomes *in vitro*, sur les techniques du transfert d'embryons chez les bovins, et sur la pathologie de la cowdriose.

Notons, parmi les principaux articles parus en 1986 dans les quatre livraisons d'*ILRAD Actualités*, ceux qui concernent les études d'épidémiologie de la trypanosomiase sur la côte orientale du Kenya, les essais d'immunisation contre la FCO, les recherches sur le rôle de l'immunité cellulaire dans la FCO, et le résumé du second examen externe des programmes de l'ILRAD et de sa gestion. Pour la deuxième fois, ce bulletin trimestriel de l'ILRAD a reçu le prix d'excellence des Agricultural Communicators in Education, association de rédacteurs spécialistes des États-Unis.

Des membres de l'ILRAD ont, en 1986, publié 39 articles dans des revues internationales, outre 23 chapitres et six rapports

Région	Pays		Institutions, Individus	
	1985	1986	1985	1986
Afrique anglophone	24	25	851	745
Afrique francophone	24	23	378	268
Europe anglophone et divers	20	19	286	235
Europe francophone	2	2	42	41
Amerique N et S	27	25	317	277
Levant, Extrême-Orient	34	31	248	233
Total	131	125	2122	1799

Figure 20. Répartition d'ILRAD *Actualités* à la fin de 1985 et à la fin de 1986.

détaillés ou livres entiers. Ces publications scientifiques, jointes aux nombreuses communications faites à des conférences internationales, constituent le gros de la production documentaire que l'ILRAD fournit à son public de chercheurs spécialisés. Les Services d'information s'attachent beaucoup à assurer la distribution de ces textes aux chercheurs ou agents d'exécution des pays en développement qui risquent de n'avoir pas accès à un large répertoire de publications scientifiques. Dans l'accord conclu avec la Cambridge University Press pour la publication de *The Ruminant Immune System in Health and Disease* figure une clause qui prévoit que l'ILRAD s'en réserve des exemplaires pour les distribuer gratuitement à des chercheurs des pays en développement.

Le Rapport annuel et les bulletins trimestriels s'adressent à des lecteurs moins spécialisés, et surtout tant aux spécialistes africains de médecine animale qu'au personnel des organisations donatrices qui soutiennent l'œuvre de recherche et de formation de l'ILRAD. Nous distribuons *ILRAD Actualités* et, à l'occasion, de courts communiqués aux journalistes de beaucoup de pays. Nous avons fait en 1986 un gros travail de vérification et de mise à jour sur la liste des adresses auxquelles nous envoyons ces publications (figure 20). Cette révision nous a permis d'identifier de façon plus précise les lecteurs des publications de l'ILRAD, donc de réduire beaucoup nos frais de production et de distribution. Nous

pouvons dire que pratiquement cent pour-cent de ceux qui figurent sur notre liste d'adresses communiquent activement avec nos Services d'information.

## LA BIBLIOTHEQUE DE L'ILRAD

Les usagers de la bibliothèque de l'ILRAD sont: les membres du personnel, les chercheurs en service temporaire, les participants du programme de formation, ainsi que le personnel d'autres institutions de recherche, de services de l'Etat et d'universités du Kenya. Notre brochure, *The ILRAD library: user's guide*, explique l'organisation de la bibliothèque et indique quelle collection de livres et de revues on y trouve.

Cette collection est spécialisée, et concerne avant tout les sujets liés aux recherches de l'ILRAD. Elle fait une grande place aux revues scientifiques. Elle est abonnée à 210 revues, qui traitent notamment de parasitologie, d'immunologie, de biochimie, d'entomologie, de cytologie, de médecine vétérinaire; plusieurs de ces revues sont des bibliographies ou des recueils de résumés. Nous revisons tous les ans notre liste d'abonnements selon les recommandations de nos chercheurs. Notre collection d'ouvrages scientifiques de référence s'accroît régulièrement: nous avons acquis en 1986 200 nouveaux livres.

La bibliothèque de l'ILRAD fait partie d'un réseau de prêts mutuels qui comprend

aussi celles de l'Université de Nairobi, 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'ICRPE. En 1986, le personnel de l'ILRAD a emprunté à ces bibliothèques 600 volumes, et notre bibliothèque leur en a prêté 100. Notre bibliothèque a fait don de plus de 200 livres et de plus de 30 tomes de revues à d'autres bibliothèques de la région de Nairobi.

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'information 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 personnel de l'ILRAD.

Quand des articles scientifiques demandés par le personnel de l'ILRAD sont introuvables au Kénya, la bibliothèque les commande. Elle a ainsi acquis en 1986, principalement du Service de prêt de la British Library, environ 200 articles.

Elle fournit sur demande, aux chercheurs ou agents d'exécution de bien des pays, les tirages à part d'articles scientifiques. En 1986, elle a distribué gratuitement 600 de ces tirages à part, surtout à des spécialistes de pays en développement.

En septembre 1986, la bibliothèque a acquis un ordinateur IBM PC/AT et un logiciel INMAGIC, équipement apte à mettre en ordinateur le catalogue et les nouvelles acquisitions. Elle avait déjà, à la fin de l'année, incorporé au système plus de 1.000 titres, et comptait disposer, au milieu de 1987, d'un catalogue entièrement sur ordinateur; elle met aussi en ordinateur, de façon graduelle, certaines de ses autres fonctions. Elle a renseigné et conseillé, au sujet de ces techniques, plusieurs bibliothèques du Kénya et une du Malawi.

# SERVICES AUXILIAIRES

## LABORATOIRE GLOSSINE

L'ILRAD a eu, en 1986, sept colonies de reproduction de glossines: *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 Kenya). Ces colonies sont représentatives des trois groupes taxinomiques de mouches tsé-tsé: *morsitans*, *palpalis*, *fusca*.

On peut élever des trypanosomes *in vitro* et s'en servir pour infecter, par piqûres, les animaux de laboratoire ou le bétail; mais, normalement, les trypanosomes passent dans des glossines plusieurs phases de leur vie. Les trypanosomes élevés et transmis artificiellement diffèrent à plusieurs égards de ceux qu'une glossine infectée transmet par sa piqûre. C'est pourquoi une grande partie des recherches de l'ILRAD sur la trypanosomiase se servent de trypanosomes qui se sont développés dans des glossines. Les travaux relatifs au développement des trypanosomes et à la transmission de la trypanosomiase se font en étroite collaboration avec le personnel du laboratoire glossine.

Nous entretenons une température de 25 degrés dans toutes nos colonies de reproduction, et nourrissons les glossines cinq jours

par semaine en leur faisant piquer les oreilles de lapins (hybrides de la race à oreilles tombantes). Nous maintenons une humidité relative de 70% pour les glossines du groupe *morsitans*, mais de 85% pour les autres colonies. La figure 21 indique comment les colonies de reproduction se sont comportées en 1986.

Nos colonies ont pu fournir toutes les glossines dont l'ILRAD a eu besoin en 1986 pour ses recherches, et aussi celles dont se sont servis les deux stages de formation du Réseau africain du bétail trypanotolérant (CIPEA/ILRAD). Elles ont aussi permis de fournir des pupes et des glossines adultes à des collègues de l'Université de Nairobi, du KETRI, de l'Institut tropical suisse, de l'Institut de médecine tropicale Prince Léopold (Belgique), de l'Institut japonais de médecine tropicale, de l'Université de l'Alberta (Canada), et de l'AIEA.

## LABORATOIRE TIQUE

Les recherches de l'ILRAD qui concernent la FCO réclament de grands nombres de sporozoïtes infectieux de *Theileria parva*. On ne peut à l'heure actuelle obtenir suffisamment de sporozoïtes de theilérias qu'en faisant constamment passer ces parasites de

Espèce de glossine	Femelles reproductrices (moyenne)	Mortalité des femelles par jour (% moyenne)	Pupes par femelle par semaine (moyenne)	Poids moyen des pupes (mg)	Pupes par an
<i>G m centralis</i>	10.348	0,49	0,61	32,70	329.295
<i>G austeni</i>	1.151	0,39	0,64	26,50	38.198
<i>G p palpalis</i>	1.122	0,82	0,53	31,33	30.844
<i>G p gambiensis</i>	2.033	0,69	0,70	29,37	73.953
<i>G f fuscipes</i>	2.157	0,40	0,45	35,87	50.502
<i>G tachinoides</i>	1.201	0,71	0,63	19,88	39.433
<i>G brevipalpis</i>	2.363	0,95	0,53	73,68	65.370

Figure 21. Rendement des sept colonies de reproduction de glossines dont l'ILRAD disposait en 1986.

tiques vectrices à des hôtes mammifères et *vice versa*. Au laboratoire tique de l'ILRAD, nous infectons des tiques en leur faisant piquer des bovins infectés par des theilérias. Nous les disséquons ensuite, et prélevons les sporozoïtes qui se trouvent dans leur glande salivaire. Notre laboratoire tique fournit des sporozoïtes, des tiques et des tissus de tique à toute une série de recherches.

Nous élevons des colonies d'ixodes (tiques dures), infectées ou non, en leur faisant piquer des bovins ou des lapins. L'espèce la plus importante est *Rhipicephalus appendiculatus*, principal vecteur de *Tp parva* et *Tp lawrencei*. Nous avons des colonies de laboratoire de plusieurs lignées de cette espèce, ainsi que d'isolats, recueillis sur le terrain en divers endroits d'Afrique orientale. Nous avons aussi des colonies, plus petites, de plusieurs autres espèces de tique: *Amblyomma variegatum* et *A gemma*, vecteurs de *Cowdria ruminantium* et de deux espèces de *Theileria* qui sont relativement bénignes, *T mutans* et *T velifera*; *Boophilus decoloratus* et *B microplus*, qui transmettent *Babesia* spp et *Anaplasma marginale*; deux autres espèces de *Rhipicephalus*, *R evertsi evertsi* et *R pulchellus*.

Nous poursuivons les études qui visent à déterminer les facteurs du développement des theilérias dans *R appendiculatus*, notre but étant d'arriver à un taux d'infection uniformément élevé. Progrès important: nous

avons fait usage de corticostéroïdes de synthèse pour empêcher la réaction immunitaire des bovins infectés que nous faisons piquer par nos tiques. Malgré tout, il reste de grosses différences inexplicables dans le taux d'infection des tiques nourries sur des individus différents. Cela provient peut-être du caractère plus ou moins infectieux des diverses souches de *Theileria*, ou de la plus ou moins grande sensibilité des diverses populations de tiques. Nous sélectionnons actuellement les populations de tiques qui ont eu les plus hauts taux d'infection, en vue d'obtenir des souches particulièrement sensibles aux lignées de *Theileria* dont nous nous servons à l'ILRAD.

Nous nous préoccupons aussi de trouver des méthodes pour nourrir les tiques artificiellement, ce qui nous permettrait, en réglant mieux les variables, d'étudier de façon plus précise le développement des tiques et la transmission des theilérias, et nous permettrait aussi d'employer moins de mammifères. Pour qu'un système d'alimentation artificielle des tiques réussisse, il faut qu'il donne envie aux tiques de piquer une membrane, et aussi que le régime alimentaire qu'il leur procure leur plaise assez pour qu'elles restent fixées jusqu'à s'être gorgées. Mais les ixodes sont difficiles dans leur alimentation. Nous sommes bien arrivés à nourrir plusieurs espèces à travers une membrane de peau de lapin, mais elles ont refusé toutes les membranes artificielles proposées

jusqu'ici; nous continuons à essayer divers éléments d'attraction. Nous avons mis à l'épreuve deux sortes de régime: le sang défibriné de différents mammifères, et du sang entier additionné de divers anticoagulants. Dans certains cas, nous avons pu, pendant jusqu'à deux jours, remplacer le sang par des éléments simples. Pour certaines tiques, il nous a fallu joindre au régime du triphosphate d'adénosine, pour éveiller leur appétit.

Nous avons procédé à d'autres expériences, pour savoir comment, sous un régime d'alimentation artificielle, les tiques absorbent des theilérias, des marqueurs radioactifs ou d'autres substances. Nous avons nourri artificiellement des nymphes d'*Amblyomma variegatum* avec le sang d'une vache infectée de cowdriose, et avons réussi à transmettre ses parasites à un veau sensible. Nous faisons actuellement des expériences analogues pour contrôler la transmission des theilérias par *Rhipicephalus appendiculatus*. Nous nous servons aussi de l'alimentation artificielle pour étudier la réaction immunitaire humorale aux tiques en train de se nourrir.

## PRODUCTION DE BETAIL

Nos installations bétailières ont été comblées en 1986, avec 557 bovins et 385 caprins destinés à nos expériences. Dans l'ensemble, 55% des bovins ont servi aux recherches sur la theilériose, 30% aux recherches sur la trypanosomiase, 10% à la caractérisation du CMH, et 5% à des opé-

rations diverses, telles que la production d'antigènes. La plupart des chèvres ont servi aux recherches sur la trypanosomiase. La station de l'ILRAD (Kapiti Plains Estate) a fourni presque tous les bovins qu'il nous fallait, mais nous avons acheté les chèvres à des éleveurs locaux.

A Kapiti, la production de bovins a fait des progrès réguliers depuis l'acquisition de la station en 1981. Le troupeau reproducteur (1.194 vaches ou génisses) nous a donné en 1986 1.112 veaux, soit un taux de vêlage de 93%. La principale raison de ce progrès est que nous avons fini de mettre au point notre système de paddocks, qui nous permet de mieux régler le pacage et les mouvements du bétail. La figure 22 montre comment la construction graduelle des clôtures a permis depuis cinq ans les progrès réguliers du cheptel et du vêlage.

En 1986, la station de Kapiti a fourni aux recherches de l'ILRAD 337 veaux boran, 52 veaux de *Bos taurus*, 16 bœufs et 8 génisses, et elle a vendu ailleurs 626 bêtes. Le Stud Book du Kenya a accepté d'immatriculer comme troupeau de base 25 vaches boran du troupeau reproducteur. Notons, parmi les progrès matériels réalisés à Kapiti pendant l'année, la construction d'une grange à fourrage, d'une station de pompage, d'un nouveau réservoir d'eau et de logements pour le personnel.

Plus de 100 des veaux boran nés à Kapiti en 1986 avaient pour géniteurs des taureaux dont le CMH était d'un type choisi; 51 provenaient d'un transfert d'embryon, vaches et taureaux étant aussi d'un type de CMH bien déterminé. Nous développons régu-

Année	Total du cheptel à la fin de l'année	Naissances	Départs
1982	2.365	707	692
1983	2.406	858	759
1984	2.563	999	781
1985	2.813	1.029	715
1986	2.818	1.112	1.039

Figure 22. Production de bovins à Kapiti Plains Estate, 1982-1986.

lièrement nos transferts d'embryon: contrôle et amélioration des techniques de traitement des embryons, et comment synchroniser l'ovulation des vaches mères et celle des vaches réceptrices. Nous comptons maintenant produire des veaux ndama par transfert d'embryons: nous avons fait saillir en novembre 1986 les cinq génisses ndama nées à l'ILRAD en 1984; nous avons prélevé huit embryons ndama et les avons transférés par chirurgie dans des vaches réceptrices boran.

Il y a eu à Kabété des cas de la maladie nodulaire cutanée, mais nous l'avons très vite maîtrisée. Des cas de fièvre aphteuse s'étant déclarés près de la station de Kapiti, il a fallu pendant quelques jours interrompre la fourniture de veaux à l'ILRAD.

## ANIMAUX DE LABORATOIRE

Le service des animaux de laboratoire fournit régulièrement à l'ILRAD, pour ses expériences, des rats, des souris et des lapins: il entretient aussi de petites colonies de campagnols (*Microtus montanus*) et de cobayes, dont les recherches ont quelquefois besoin. Le logement et l'entretien de tous ces rongeurs sont conformes aux conventions internationales sur la protection des animaux.

Tous les rats élevés à l'ILRAD sont exogamiques et proviennent de la lignée Sprague-Dawley. Ils servent surtout à produire des trypanosomes. Pour mieux accorder l'offre et la demande, nous avons, en 1986, réduit de 25% nos colonies de reproduction, tout en procurant le même nombre de rats aux recherches de l'ILRAD.

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 en servons aussi pour produire des anticorps monoclonaux. Nous employons de plus en plus de souris exogamiques suisses parce qu'elles sont plus productives et grandissent plus vite que les souris endogamiques. Nous avons toute l'année, pour répondre aux besoins spéciaux

de la recherche, des colonies de trois lignées endogamiques: BALB/c, C3H/He et C57Bl/6; nous avons aussi deux lignées d'hybrides: C3H/He x C57Bl/6 et BALB/c x F<sub>1</sub> suisse. Nous n'employons pas actuellement la première de ces deux lignées d'hybrides, mais nous servons beaucoup de la seconde pour produire les ascites qu'il nous faut pour des anticorps monoclonaux.

Notre système d'isolement pour animaux de laboratoire fonctionne maintenant à plein; nous avons importé, pour les trois lignées de souris endogamiques que nous avons à l'ILRAD, des couples à pedigree élevés en isolateur. Nous tenons en isolateur toutes nos colonies primaires et tous les couples à pedigree, et nous mettons aussi en isolateur toutes les autres souris importées, pour qu'elles ne contaminent pas nos grandes colonies de reproduction et n'en soient pas non plus contaminées.

Nous nous servons des lapins principalement pour produire des antisérums et pour alimenter nos colonies de glossines et de tiques. Notre colonie de lapins a augmenté lentement d'année en année; il nous a fallu acheter des lapins à l'extérieur, en courant le risque d'introduire des maladies dans notre élevage. On a attribué la forte mortalité des lapins de l'ILRAD à une ventilation en partie insuffisante; aussi, dès qu'ils sont sevrés, nous gardons la plupart de nos lapins dans des clapiers en plein air. A la fin de 1986, pour la première fois, notre élevage de lapins a pu nous fournir tous les lapins nécessaires à nos recherches.

En 1986, l'OMS a donné à l'ILRAD une petite colonie (de fondation) de rats du coton (*Sigmodon hispidus*). On a émis l'idée que les rats du coton pourraient avoir un anticorps naturel contre *T vivax*; c'est cette possibilité que nous étudions actuellement à l'ILRAD.

La figure 23 donne le nombre total des rats, souris et lapins produits et employés en 1986. La demande de souris a baissé de 9% sur 1985; celle de rats et de lapins n'a pas changé.

Non seulement nos colonies de reproduc-

Espèce, lignée	Sevrages	Quantités fournies aux chercheurs
Rats	16.141	13.075
Souris		
SuisSES exogamiques	29.608	20.967
BALB/c endogamiques	18.189	10.751
C3H/He endogamiques	7.766	4.685
C57Bl/6 endogamiques	5.729	2.412
BALB/c x SuisSES F <sub>1</sub>	6.835	4.760
Lapins	820	1.301

Figure 23. Rats, souris et lapins produits et fournis aux chercheurs de l'ILRAD en 1986.

tion fournissent presque tous les animaux de laboratoire employés à l'ILRAD, mais elles fournissent des souris et des rats à plusieurs autres organisations; il s'agissait en 1986 des institutions suivantes: ICIPE, KETRI, Institut kényen de recherche médicale, Institut de recherches sur les primates, Département de biochimie de l'Université de Nairobi, Laboratoire kényen de recherche vétérinaire, musées nationaux du Kenya, Société protectrice des animaux du Kenya, plusieurs établissements secondaires du Kenya, le Laboratoire vétérinaire national de Kigali (Rwanda).

## SERVICES CLINIQUES ET DIAGNOSTIQUES

Le laboratoire diagnostique procède à plusieurs sortes d'analyses régulières dont ont besoin les chercheurs de l'ILRAD et les sections de production animale. Il a analysé en 1986 un total de 37.008 spécimens: 26.362 étaient sérologiques, 4.851 bactériologiques, 2.986 hématologiques, 2.809 helminthologiques.

Nous criblons les échantillons de sérum du bétail pour voir s'ils contiennent des anticorps contre sept hématozoaires: *Theileria parva*, *T mutans*, *Trypanosoma brucei brucei*, *T congolense*, *T vivax*, *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina*. La plupart des criblages réguliers qui visent les theilérias ou les trypanosomes se font par immunofluo-

rescence indirecte. Nous employons aussi la méthode immuno-enzymatique indirecte (ELISA) pour rechercher dans le sérum bovin des anticorps à *Anaplasma marginale* ou *Babesia bigemina* ainsi qu'aux trois espèces de *Trypanosoma*. Deux grandes réalisations de 1986: nous avons mis au point la méthode ELISA indirecte pour cribler les anticorps contre *Theileria mutans*, et une méthode ELISA ponctuelle (ELIDOT) pour diagnostiquer la trypanosomiase bovine.

Outre les services qu'il rend aux chercheurs de l'ILRAD, le laboratoire diagnostique a continué à aider d'autres institutions ou d'autres opérations. Il a fourni divers éléments (antigènes, conjugués, lysats de lymphocytes, sérums de contrôle) au Centre international de trypanotolérance (Gambie), à une opération de la GTZ au Burundi, à une opération de la FAO au Zimbabwe et à l'Université d'Ibadan (Nigeria). Il a criblé 20 spécimens de sérum pour des anticorps contre *Theileria parva* pour le compte de l'opération de la FAO au Zimbabwe, et 250 spécimens pour l'opération de lutte contre les tiques que la FAO dirige au Kenya.

Des membres du laboratoire diagnostique ont aidé à diriger le stage de formation de trois mois qui concernait la préparation et l'emploi de réactifs pour le diagnostic des maladies bovines à hématozoaires, et qui comptait des participants de neuf pays en développement. Ils ont aussi apporté leur

contribution au stage régional de formation qui portait sur l'emploi d'immunocontrôles radiologiques et enzymatiques dans les études sur la reproduction des animaux et sur le diagnostic de leurs maladies. De plus, six vétérinaires venus de pays en développement ont reçu au laboratoire une formation individuelle.

## BIostatistique ET Informatique

Le service de biostatistique et d'informatique de l'ILRAD, en collaboration avec l'Université de Strathelyde (R.U.), conseille nos chercheurs en matière de statistique ainsi qu'au sujet des micro-ordinateurs, de leur installation et de leur emploi. Principales opérations de 1986: appui statistique aux essais pratiqués sur le terrain, contre la FCO, dans la province kényenne de la Côte, aux expériences faites, en matière de trypanosomiase, sur les bovins ndama et les bovins boran, aux inventaires de glossines dressés en Afrique occidentale par le Réseau

africain du bétail trypanotolérant, et à l'analyse isoenzymatique des différentes espèces de trypanosome. Ce service a constitué à l'ILRAD plusieurs bases de données, par exemple sur les types d'HCM des bovins, sur la production des tiques et sur leur taux d'infection, et sur tous les stabilats de trypanosomes et de maladies transmises par les tiques dont dispose l'ILRAD. Il a dressé aussi des programmes pour l'analyse des données relatives aux types d'HCM; il en dresse maintenant pour l'analyse des données obtenues au moyen du trieur de cellules, activé par fluorescence, dont dispose l'ILRAD.

Autre important progrès de 1986: nous avons mis en place un meilleur système de télécommunications. En installant un nouveau standard, nous avons pu nouer des liens entre les ordinateurs de l'ILRAD, et, en recourant à des modems extérieurs, entrer en contact avec des bases internationales ainsi qu'avec le CGNET du GCRAI. Nous mettons aussi en ordinateur les opérations de la bibliothèque de l'ILRAD qui concernent le catalogue et les commandes.

# PUBLICATIONS DE 1986

- Akol, G.W.O. et Murray, Max (1986). Parasite kinetics and immune responses in efferent prefemoral lymph draining skin reactions induced by tsetse-transmitted *Trypanosoma congolense*. *Veterinary Parasitology*. 19: 281-93 (332).
- Akol, G.W.O., Murray, Max, Hirumi, H., Hirumi, K. et Mooloo, S.K. (1986). Infectivity to cattle of metacyclic forms of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* propagated *in vitro*. I. Development of localized skin reactions following intradermal inoculation. *Acta Tropica*. 43: 207-14 (334).
- Akol, G.W.O., Authie, E., Pinder, M., Mooloo, S.K., Roelants, G.E. et Murray, Max (1986). Susceptibility and immune responses of Zebu and taurine cattle of West Africa to infection with *Trypanosoma congolense* transmitted by *Glossina morsitans centralis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 11: 361-73 (351).
- Baldwin, C.L., Malu, M.N., Kinuthia, S.W., Conrad, P.A. et Grootenhuis, J.G. (1986). Comparative analysis of infection and transformation of lymphocytes from African buffalo and Boran cattle with *Theileria parva* subsp. *parva* and *T parva* subsp. *lawrencei*. *Infection and Immunity*. 53: 186-91 (440).
- Baldwin, C.L., Teale, A.J., Naessens, J.G., Goddeeris, B.M., MacHugh, N.D. et Morrison, W.I. (1986). Characterization of a subset of bovine T lymphocytes that express BoT4 by monoclonal antibodies and function: similarity to lymphocytes defined by human T4 and murine L3T4. *Journal of Immunology*. 136: 4385-91 (434).
- Black, S.J. (1986). Host responses which control *Trypanosoma brucei* parasites. Publié sous la direction de W.I. Morrison. *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 525-38 (505).
- Black, S.J., Sendashonga, C.N., Webster, P., Koch, G.L.E. et Shapiro, S.Z. (1986). Regulation of parasite-specific antibody responses in resistant (C57BL/6) and susceptible (C3H/HE) mice infected with *Trypanosoma (Trypanozoon) brucei brucei*. *Parasite Immunology*. 8: 425-42 (348).
- Brown, W.C. et Logan, K.S. (1986). Bovine T-cell clones infected with *Theileria parva* produce a factor with IL 2-like activity. *Parasite Immunology*. 8: 189-92 (357).
- Büscher, G. et Otim, B. (1986). Quantitative studies on *Theileria parva* in the salivary glands of *Rhipicephalus appendiculatus* adults: quantitation and prediction of infection. *International Journal for Parasitology*. 16: 93-100 (377).
- Büscher, G. et Tangus, J. (1986). Quantitative studies on *Theileria parva* in the salivary glands of *Rhipicephalus appendiculatus* adults: search for conditions for high infections. *International Journal for Parasitology*. 16: 121-29 (378).
- CIPEA (1986). *The African trypanotolerant livestock network: indications from results, 1983-1985*. Addis Abéba: CIPEA, 144 pp (526).

- CIPEA/ILRAD (1986). *The ILCA/ILRAD trypanotolerance network: situation report, December 1985, proceedings of a network meeting*. Addis Abéba: CIPEA, 98 pp (524).
- Dwinger, R.H., Luckins, A.G., Murray, Max, Rae, P. et Moloo, S.K. (1986). Interference between different serodemes of *Trypanosoma congolense* in the establishment of superinfections in goats following transmission by tsetse. *Parasite Immunology*, 8: 293-305 (367).
- Dwinger, R.H., Luckins, A.G., Murray, Max, Rae, P. et Moloo, S.K. (1986). Interference between different serodemes of *Trypanosoma congolense* in the establishment of superinfections in goats following tsetse transmission. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiases et leur contrôle: 18è réunion*. Naïrobi: OUA/CSTR, pp. 96-99 (379).
- Dwinger, R.H., Grootenhuis, J.G., Murray, Max, Moloo, S.K. et Gettinby, G. (1986). Susceptibility of buffaloes, cattle and goats to infection with different stocks of *Trypanosoma vivax* transmitted by *Glossina morsitans centralis*. *Research in Veterinary Science*, 41: 307-15 (373).
- Dwinger, R.H., Murray, Max et Moloo, S.K. (1986). Skin hypersensitivity to bites of *Glossina morsitans centralis* in goats. *Insect Science and its Application*, 7: 653-57 (372).
- Ellis, J.A., Baldwin, C.L., MacHugh, N.D., Bensaid, A., Teale, A.J., Goddeeris, B.M. et Morrison, W.I. (1986). Characterization by a monoclonal antibody and functional analysis of a subset of bovine T lymphocytes that express BoT8, a molecule analogous to human CD8. *Immunology*, 58: 351-58 (449).
- Ellis, J.A., Shapiro, S.Z., ole MoiYoi, O. et Moloo, S.K. (1986). Lesions and saliva-specific antibody responses in rabbits with immediate and delayed hypersensitivity reactions to the bites of *Glossina morsitans centralis*. *Veterinary Pathology*, 23: 661-67 (446).
- Emery, D.L., Morrison, W.I. et Jack, R.M. (1986). Induction of immunity against infection with *Theileria parva* (East Coast fever) in cattle using plasma membranes from parasitized lymphoblasts. *Veterinary Parasitology*, 19: 321-27 (254).
- Gardiner, P.R. et Otieno, L.H., directeurs de la publication. (1986). *Progress in protozoology: proceedings of the VII International Congress of Protozoology, Insect Science and its Application*. Issue spéciale, 7: 247-455 (422).
- Gardiner, P.R., Thatthi, R., Gathuo, H., Nelson, R. et Moloo, S.K. (1986). Further studies of cyclical transmission and antigenic variation of the ILDaR 1 serodeme of *Trypanosoma vivax*. *Parasitology*, 92: 581-93 (386).
- Gardiner, P.R., Webster, P., Jenni, L. et Moloo, S.K. (1986). Metacyclic *Trypanosoma vivax* possess a surface coat. *Parasitology*, 92: 75-82 (336).
- Goddeeris, B.M., Baldwin, C.L., ole MoiYoi, O. et Morrison, W.I. (1986). Improved methods for purification and depletion of monocytes from bovine peripheral blood mononuclear cells: functional evaluation of monocytes in responses to lectins. *Journal of Immunological Methods*, 89: 165-73 (396).

- Goddeeris, B.M., Lalor, P.A. et Morrison, W.I. (1986). Bovine mixed leukocyte reactions and generation of cytotoxic cells. Publié sous la direction de W.I. Morrison. *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 299-321 (412).
- Goddeeris, B.M., Morrison, W.I. et Teale, A.J. (1986). Generation of bovine cytotoxic cell lines, specific for cells infected with the protozoan parasite *Theileria parva* and restricted by products of the major histocompatibility complex. *European Journal of Immunology*, 16: 1243-49 (454).
- Goddeeris, B.M., Morrison, W.I., Teale, A.J., Bensaid, A. et Baldwin, C.L. (1986). Bovine cytotoxic T-cell clones specific for cells infected with the protozoan parasite *Theileria parva*: parasite strain specificity and class I major histocompatibility complex restriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 83: 5238-42 (439).
- Holmes, P.H., Whitelaw, D.D., Bell, I., Moloo, S.K., Hirumi, H., Murray, Max et Urquhart, G.M. (1986). The association between Samorin chemophylaxis and immune responses in cattle under experimental metacyclic *Trypanosoma congolense* challenge. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiases et leur contrôle, 18è réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 213-18 (406).
- Irvin, A.D., directeur de la publication. (1986). *Immunization against East Coast fever: report of a workshop on collection, handling and analysis of performance and productivity data*. Nairobi: ILRAD, 32pp (453).
- Ismael, A.A., Njogu, A.R., Gettinby, G. et Murray, Max (1986). Susceptibility of Orma and Galana Boran cattle to infection with bloodstream forms of *Trypanosoma congolense* and *T vivax*. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiases et leur contrôle, 18è réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 176-81 (364).
- Jordt, T., Mahon, G.D., Touray, B.N., Ngulo, W.K., Morrison, W.I., Rawle, J. et Murray, Max (1986). Successful transfer of frozen N'Dama embryos from The Gambia to Kenya. *Tropical Animal Health and Production*, 18: 65-75 (356).
- Jordt, T., Mahon, G.D., Touray, B.N., Ngulo, W.K., Morrison, W.I., Rawle, J. et Murray, Max (1986). Successful transfer of N'Dama embryos into Boran recipients. *Veterinary Record*, 119: 246-47 (355).
- Lalor, P.A., Morrison, W.I. et Black, S.J. (1986). Monoclonal antibodies to bovine leucocytes define heterogeneity of target cells for *in vitro* parasitosis by *Theileria parva*. Publié sous la direction de W.I. Morrison. *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 72-87 (368).
- Lalor, P.A., Morrison, W.I., Goddeeris, B.M., Jack, R.M. et Black, S.J. (1986). Monoclonal antibodies identify phenotypically and functionally distinct cell types in the bovine lymphoid system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 13: 121-40 (414).

- Leak, S.G.A., Paling, R.W., Moloo, S.K., Maehl, J.H.H., Jeannin, P., Yangari, G. et Zang-Mve, J.P. (1986). The Trypano-tolerance Network. 2. A study on health and productivity of N'Dama, Nguni and their crosses under quantified levels of tsetse challenge in Gabon. 2.1 Tsetse survey. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiases et leur contrôle, 18è réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 253-58 (491).
- Lonsdale-Eccles, J.D. et Grab, D.J. (1986). Proteases in African trypanosomes. Publié sous la direction de V. Turk. *Cysteine proteinases and their inhibitors*. Berlin: Walter de Gruyter, pp. 189-97 (385).
- Lonsdale-Eccles, J.D. et Mpimbaza, G.W.N. (1986). Thiol-dependent proteases of African trypanosomes: analysis by electrophoresis in sodium dodecyl sulphate/polyacrylamide gels co-polymerized with fibrinogen. *European Journal of Biochemistry*. 155: 469-73 (374).
- Mahan, S.M., Hendershot, L. et Black S.J. (1986). Control of trypanodestructive antibody responses and parasitaemia in mice infected with *Trypanosoma (Duttonella) vivax*. *Infection and Immunity*. 54: 213-21 (383).
- Majiwa, P.A.O., Hamers, R., van Meirvenne, N. et Matthyssens, G. (1986). Evidence for genetic diversity in *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*. *Parasitology*. 93: 291-304 (429).
- Majiwa, P.A.O., Young, J.R., Hamers, R. et Matthyssens, G. (1986). Minichromosomal variable surface glycoprotein genes and molecular karyotypes of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*. *Gene*. 41: 183-92 (353).
- Maloo, S.H., Chema, S., Koskey, J., Kimotho, P.G., Trail, J.C.M. et Murray, Max (1986). Health and productivity of East African Zebu under village management in a tsetse area on the coast of Kenya. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiases et leur contrôle, 18è réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 182-86 (366).
- Moloo, S.K., Asonganyi, T. et Jenni, L. (1986). Cyclical development of *Trypanosoma brucei gambiense* from cattle and goats in *Glossina*. *Acta Tropica*. 43: 407-8 (337).
- Moloo, S.K., Kutuza, S.B., Bakakimpa, I., Kamunya, G.W., Desai, J. et Pereira, H. (1986). Colonization of *Glossina* species and studies on some aspects of their vector role. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiases et leur contrôle, 18è réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 314-21 (417).
- Mongi, A.O., Shapiro, S.Z., Doyle, J.J. et Cunningham, M.P. (1986). Characterization of antigens from extracts of fed ticks using sera from rabbits immunized with extracted tick antigen and successive tick infestation. *Insect Science and its Application*. 7: 479-87 (508).
- Mongi, A.O., Shapiro, S.Z., Doyle, J.J. et Cunningham, M.P. (1986). Immunization of rabbits with *Rhipicephalus appendiculatus* antigen-antibody complexes. *Insect Science and its Application*. 7: 471-77 (507).
- Morrison, W.I., directeur de la publication. (1986). *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, 570pp (423).

- Morrison, W.I., Emery, D.L., Teale, A.J. et Goddeeris, B.M. (1986). Protective immune responses in bovine theileriosis. Publié sous la direction de W.I. Morrison. *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 555-70 (371).
- Morrison, W.I., Lalor, P.A., Christensen, A.K. e. Webster, P. (1986). Cellular constituents and structural organization of the bovine thymus and lymph node. Publié sous la direction de W.I. Morrison. *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 220-51 (369).
- Morrison, W.I., Lalor, P.A., Goddeeris, B.M. et Teale, A.J. (1986). Theileriosis: antigens and host-parasite interactions. Publié sous la direction de T.W. Pearson. *Parasite antigens: toward new strategies for vaccines*. New York: Marcel Dekker, pp. 167-213. (269).
- Morrison, W.I., Goddeeris, B.M., Teale, A.J., Baldwin, C.L., Bensaïd, A. et Ellis, I. (1986). Cell-mediated immune responses of cattle to *Theileria parva*. *Immunology Today*, 7: 211-16 (433).
- Musoke, A.J., Rurangirwa, F.R. et Nantulya, V.M. (1986). Biological properties of bovine immunoglobulins and systemic antibody responses. Publié sous la direction de W.I. Morrison. *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 391-408 (506).
- Nantulya, V.M. (1986). Immunological approaches to the control of animal trypanosomiasis. *Parasitology Today*, 2: 168-73 (445).
- Nantulya, V.M., Musoke, A.J. et Mooloo, S.K. (1986). Apparent exhaustion of the variable antigen repertoires of *Trypanosoma vivax* in infected cattle. *Infection and Immunity*, 54: 444-47 (455).
- Nantulya, V.M., Musoke, A.J. et Rurangirwa, F.R. (1986). Immune responses in experimental African trypanosomiasis. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiasis et leur contrôle, 18<sup>e</sup> réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 113-23 (407).
- Newson, J., Naessens, J., Stagg, D.A. et Black, S.J. (1986). A cell surface antigen associated with *Theileria parva lawrencei*-infected bovine lymphoid cells. *Parasite Immunology*, 8: 149-58 (349).
- Rurangirwa, F.R., Minja, S.H., Musoke, A.J., Nantulya, V.M., Grootenhuis, J. et Mooloo, S.K. (1986). Production and evaluation of specific antisera against sera of various vertebrate species for identification of bloodmeals of *Glossina morsitans centralis*. *Acta Tropica*, 43: 379-89. (397).
- Rurangirwa, F.R., Musoke, A.J., Nantulya, V.M., Nkonge, C., Njuguna, L., Mushi, E.Z., Karstad, L. et Grootenhuis, J. (1986). Immune effector mechanisms involved in the control of parasitaemia in *Trypanosoma brucei*-infected wildebeest (*Connochaetes taurinus*). *Immunology*, 58: 231-37 (361).
- Sendashonga, C.N. et Black, S.J. (1986). Analysis of B cell and T cell proliferative responses induced by monomorphic and pleomorphic *Trypanosoma brucei* parasites in mice. *Parasite Immunology*, 8: 443-53 (398).
- Shapiro, S.Z. (1986). *Trypanosoma brucei*: release of variant surface glycoprotein during the parasite life cycle. *Experimental Parasitology*, 61: 432-37 (341).

- Shapiro, S.Z. et Pearson, T.W. (1986). African trypanosomiasis: antigens and host-parasite interactions. Publié sous la direction de T.W. Pearson. *Parasite antigens: toward new strategies for vaccines*. New-York: Marcel Dekker, pp. 215-74. (308).
- Shapiro, S.Z., Voigt, W.P. et Fugisaki, K. (1986). Tick antigens recognized by serum from a guinea pig resistant to infestation with the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Journal of Parasitology*. 72: 454-63 (342).
- Taracha, E.L.N., Irvin, A.D., Morzaria, S.P., Moloo, S.K., Katende, J.M. et Kiarie, J.N. (1986). Effect of chronic trypanosomiasis on immunization against East Coast fever. *Veterinary Parasitology*. 22: 215-22 (360).
- Teale, A.J., Baldwin, C.L., Ellis, J.A., Newson, J., Goddeeris, B.M. et Morrison, W.I. (1986). Alloreactive bovine T lymphocyte clones: an analysis of function, phenotype and specificity. *Journal of Immunology*. 136: 4392-98 (399).
- Teale, A.J., Morrison, W.I., Spooner, R.L., Goddeeris, B.M., Grocock, C.M. et Stagg, D.A. (1986). Bovine alloreactive cytotoxic T cells. Publié sous la direction de W.I. Morrison. *The ruminant immune system in health and disease*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 322-45 (415).
- Trail, J.C.M., Murray, Max, Sones, K., Jibbo, J.M.C., Durkin, J. et Light, D. (1986). Productivity of Boran cattle maintained with chemoprophylaxis under high tsetse challenge at Mkwaja Ranch in Tanzania. 2. Productivity. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiasés et leur contrôle, 18<sup>e</sup> réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 232-36 (408).
- Trail, J.C.M., Wissocq, Y.J., D'leteren, G., Machl, J.H.H., Murray, Max, Paling, R.W., Leak, S.G.A. et Moloo, S.K. (1986). The Trypanotolerance Network. 1. Objectives, organization and current activities. Dans *Conseil scientifique international de recherche sur les trypanosomiasés et leur contrôle, 18<sup>e</sup> réunion*. Nairobi: OUA/CSTR, pp. 247-52 (490).
- Venable, J.H., Webster, P., Shapiro, S.Z. et Voigt, W.P. (1986). An immunocytochemical marker for the complex granules of tick salivary glands which traces e-granule shedding to interstitial labyrinthine spaces. *Tissue and Cell*. 18: 765-81 (431).
- Whitelaw, D.D., Bell, I.R., Holmes, P.H., Moloo, S.K., Hirumi, H., Urquhart, G.M. et Murray, Max (1986). Isometamidium chloride prophylaxis against *Trypanosoma congolense* challenge and the development of immune responses in Boran cattle. *Veterinary Record*. 118: 722-26 (350).
- Young, A.S. et Morzaria, S.P. (1986). Biology of *Babesia*. *Parasitology Today*. 2: 211-19 (522).
- Young, J.R. et Westley, S.B., directeurs de la publication. (1986). *Genetic Exchange in Trypanosomes: Summary Proceedings of an International Workshop*. Nairobi: ILRAD, 60pp (518).

# CONSEIL DES DIRECTEURS

(en poste pendant tout ou une partie de 1986)

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

Dr D.M. Chavunduka  
Highlands Veterinary Surgery  
Hararé (Zimbabwe)

Prof P. Doherty  
Département de pathologie expérimentale  
John Curtin School of Medical Research  
Canberra City (Australie)

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)

Prof H.E. Jahnke  
Faculté du développement de  
l'agriculture internationale  
Université technique de Berlin  
Berlin (Allemagne fédérale)

Professor L. Jenni  
Institut tropical suisse  
Bâle (Suisse)

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

Dr C.L. L'Ecuyer  
Directorat de la Coordination  
des Commodités  
Ministère de l'Agriculture  
Ottawa (Canada)

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)

Dr A.R. Njogu  
Directeur  
Institut kényen de recherches  
sur la trypanosomiase  
Muguga (Kénya)

Professor E.N.W. Opong  
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 1986)

## ADMINISTRATION

A.R. Gray  
Directeur général  
P.R. Rowe  
Directeur d'Administration  
J.J. Doyle  
Director de Recherches  
B.C. Lloyd  
Contrôleur financier  
M.A. Craig  
Chef administratif  
G. Migwi  
Directeur du Service du Personnel  
J.L.N. Kanyi  
Principale administrateur  
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

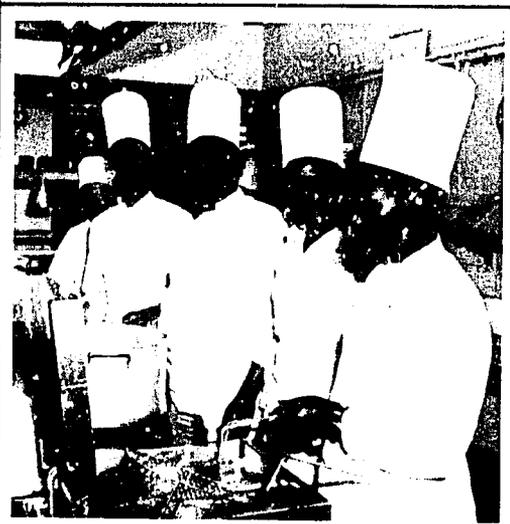
## PARASITOLOGIE DE LA TRYPANOSOMIASE

V.M. Nantulya  
Chercheur/Directeur  
de Projet  
P.R. Gardiner  
Chercheur  
G. Knowles  
Chercheur  
T.W. Pearson  
Chercheur Visiteur  
D. Whitelaw  
Chercheur Visiteur  
R.A. Masake  
Chercheur Post-Doctoral  
W. Isharaza  
Boursier d'Études Supérieures  
L.M. Mutharia  
Boursier d'Études Supérieures  
R.W. Hampton  
Boursier d'Études  
V.O. Taiwo  
Boursier d'Études  
J.G. Vos  
Boursier d'Études  
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
- B. Gichuki  
Technicien de Laboratoire

### BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE



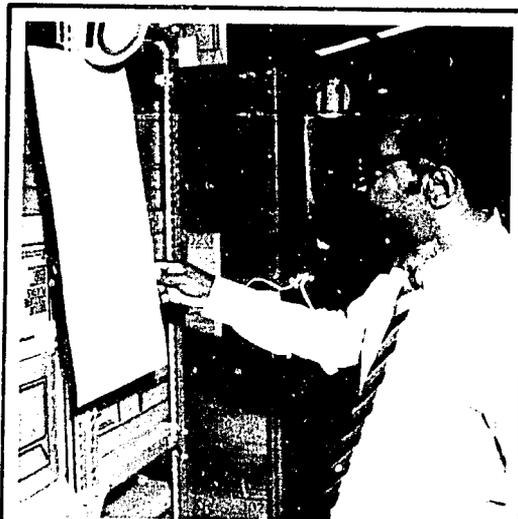
- O. ole MoiYoi  
Chercheur Sénior/Directeur  
de Projet
- D.J. Grab  
Chercheur
- J. Lonsdale-Eccles  
Chercheur
- J.R. Young  
Chercheur
- I. Baumann  
Chercheur Visiteur
- J. Ntambi  
Chercheur Visiteur
- K. Iams  
Chercheur Post-Doctoral
- B.A. Kukla  
Chercheur Post-Doctoral
- P. Majiwa  
Chercheur Post-Doctoral
- T. Aboagwe-Kwarteng  
Boursier d'Etudes
- W.O. Endege  
Boursier d'Etudes
- M.K. Limo  
Boursier d'Etudes
- E. Gobright  
Chercheur Associé
- B. Kimmel  
Chercheur Associé
- M. Macklin  
Chercheur Associé
- G. Mpimbaza  
Chercheur Associé



A. Nayar  
Technicien de Laboratoire  
J. Verjee  
Technicien de Laboratoire

## BIOLOGIE CELLULAIRE

H. Hirumi  
Chercheur Sénior/Directeur  
de Projet  
W.R. Fish  
Chercheur  
B. Honigberg  
Chercheur Visiteur  
T. Yanagi  
Chercheur Visiteur  
N.K. Borowy  
Chercheur Post-Doctoral  
R. Kaminsky  
Chercheur Post-Doctoral  
H.K. Waithaka  
Boursier d'Etudes  
K. Hirumi  
Chercheur Associé  
R.T. Nelson  
Chercheur Associé  
E. Omolo  
Technicien de Laboratoire



## IMMUNOBIOLOGIE

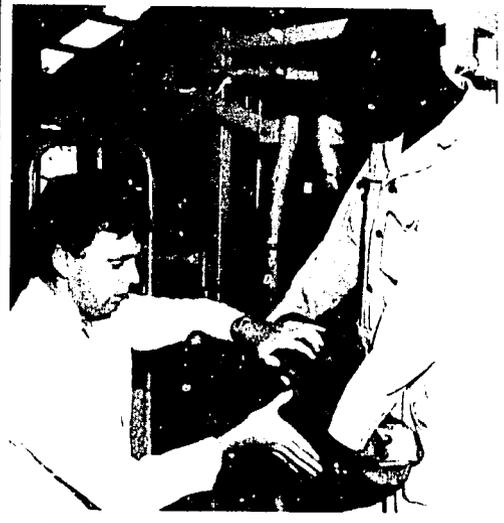
S.J. Black  
Chercheur Sénior/Directeur  
de Projet  
W.C. Barry  
Chercheur  
S.Z. Shapiro  
Chercheur  
J. Naessens  
Chercheur Visiteur  
S. Mahan  
Chercheur Post-Doctoral  
C. Sendashonga  
Chercheur Post-Doctoral  
S. Kinuthia  
Boursier d'Etudes  
V. Lutj  
Boursier d'Etudes





- J. Olobo  
Boursier d'Etudes
- K.S. Logan  
Chercheur Associé
- J. Magundu  
Chercheur Associé
- J. Newson  
Chercheur Associé
- P. Malde  
Technicien de Laboratoire

## PARASITOLOGIE DE LA THEILERIOSE



- A.D. Irvin  
Chercheur Sénior/Directeur  
de Projet
- A.J. Musoke  
Chercheur Sénior/Directeur  
de Projet
- T.T. Dolan  
Chercheur
- S.P. Morzaria  
Chercheur
- V. Nene  
Chercheur
- C. Sugimoto  
Chercheur Visiteur
- P.A. Conrad  
Chercheur Post-Doctoral
- R. Hall  
Chercheur Post-Doctoral



- K. Sollo  
Boursier d'Etudes Supérieures
- M. Butera  
Boursier d'Etudes
- A. Ismail  
Boursier d'Etudes
- S.H. Minja  
Chercheur Associé
- C.G. Nkonge  
Chercheur Associé
- P.R. Spooner  
Chercheur Associé
- L.N. Mburu  
Technicien de Laboratoire
- J. Kiarie  
Technicien de Laboratoire

R. Njamunggeh  
Technicien de Laboratoire

**PATHOLOGIE**

W.I. Morrison  
Chercheur Sénior/Directeur  
de Projet

R.W. Paling  
Chercheur

A.J. Teale  
Chercheur

A. Bensaid  
Chercheur Visiteur

L. Bonizzi  
Chercheur Visiteur

D.L. Emery  
Chercheur Visiteur

T. Gliozzi  
Chercheur Visiteur

B. Goddeeris  
Chercheur Visiteur

P. Malu  
Chercheur Visiteur

A. Morgan  
Chercheur Visiteur

C. Baldwin  
Chercheur Post-Doctoral

J.A. Ellis  
Chercheur Post-Doctoral

S. Kemp  
Chercheur Post-Doctoral

D. McKeever  
Chercheur Post-Doctoral

P. Toye  
Chercheur Post-Doctoral

E. Lorenzini  
Boursier d'Études

O. Ogunyemi  
Boursier d'Études

A. Peregrine  
Boursier d'Études

E.L.N. Taracha  
Boursier d'Études

G.M. Lamb  
Chercheur Associé

N.D. MacHugh  
Chercheur Associé





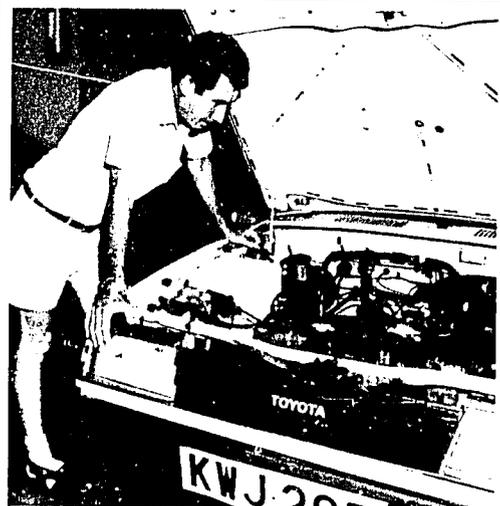
A. Khaushal  
Technicien de Laboratoire  
J. Mburu  
Technicien de Laboratoire

#### MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

S. Ito  
Chercheur Sénior  
M. Shaw  
Chercheur/Chef de l'Unité  
P. Webster  
Chercheur Associé

#### LABORATOIRE GLOSSINE

S.K. Moloo  
Chercheur Sénior/Chef  
de l'Unité  
S.B. Kutuza  
Chercheur Associé  
S.G.A. Leak  
Chercheur Associé  
E. Ndhine  
Technicien de Laboratoire  
G. Kamunya  
Technicien de Laboratoire



#### LABORATOIRE TIQUE

W.P. Voigt  
Chercheur/Chef de l'Unité  
F. Mwakima  
Chercheur Associé



#### SERVICE DE NOYAU CENTRALE

C.A. Hinson  
Chercheur Associé/Responsable  
de la Sécurité Radiation

#### PRODUCTION D'ANIMAUX/ SERVICES DIAGNOSTIQUES

T. Jordt  
Chercheur/Chef de l'Unité  
R.C. King  
Chercheur Associé/Chef de  
l'Unité

J. Katende  
Chercheur Associé  
S.J. Kimani  
Responsable de Ferme/Kabété  
L.J. Howard  
Responsable de Ranch/Kapiti

## FORMATION ET INFORMATION

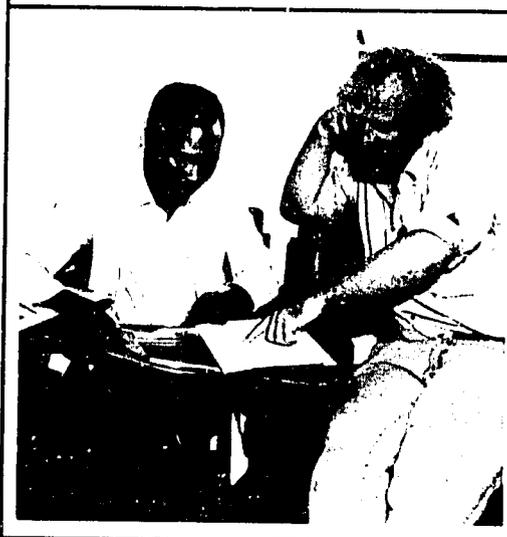
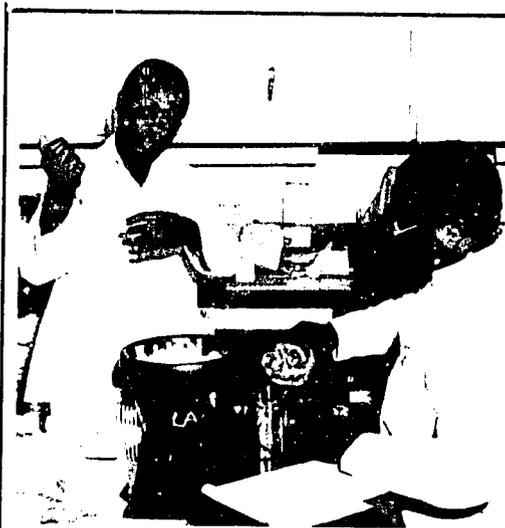
J.K. Lenahan  
Responsable de la Formation et  
l'Information  
S.B. Westley  
Rédacteur Scientifique  
W. Umbima  
Bibliothécaire  
D. Elsworth  
Photographe Scientifique/  
Surveillant des Arts Graphiques  
J.R. Scott  
Chercheur Associé/Biostatistique  
G. Gettinby  
Chercheur Visiteur

## PROJET POUR LES MALADIES DE LA FAUNE

J.G. Grootenhuis  
Chercheur Sénior

## PROJET SUR LA TRYPANOTOLERANCE DES NDAMA

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



# SITUATION FINANCIERE

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

Telephone 21244  
Telex 22140 CHUNGA  
Cables PRICEWATER  
Telecopier 335937

---

*Price Waterhouse*



## RAPPORT A LA DIRECTION DU LABORATOIRE INTERNATIONAL DE RECHERCHES SUR LES MALADIES ANIMALES (ILRAD)

Nous pouvons, après avoir examiné en détail les résumés ci-contre (figures 24 à 27), 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 1986 et 1985.

Nous confirmons que l'information des résumés financiers est consistante avec celle contenue dans les audits des années finissant le 31 décembre 1986 et 1985, sur lesquels nous avons exprimé notre approbation.

*Price Waterhouse*

---

PRICE WATERHOUSE  
Experts Comptables

20 mars 1987

	1986	1985
<b>Recherche</b>		
Parasitologie (trypanosomiase)	484	432
Biochimie	640	656
Cytologie	490	466
Immunobiologie	484	357
Parasitologie (theilériose)	563	516
Pathologie	605	605
Laboratoire glossine	314	297
Laboratoire tique	150	124
Microscopie électronique	131	148
Socio-economique	33	---
<b>Total partiel</b>	<b>3894</b>	<b>3601</b>
<b>Services auxiliaires</b>		
Bureau du Directeur de recherches	550	416
Production de bétail	597	617
Production d'animaux de laboratoire	209	148
Services cliniques et diagnostiques	88	72
Service radio-isotopique et central	388	341
<b>Total partiel</b>	<b>1832</b>	<b>1591</b>
<b>Formation et conférences</b>	<b>793</b>	<b>752</b>
<b>Bibliothèque et information</b>	<b>394</b>	<b>369</b>
<b>Administration</b>		
Conseil des directeurs	86	83
Bureau du Directeur général	373	394
Finances	342	332
Personnel	80	74
Achats	343	302
<b>Total partiel</b>	<b>1224</b>	<b>1185</b>
<b>Fonctionnement</b>		
Service technique	661	660
Transports	190	214
Services	237	228
Alimentation, logement	58	5
Magasins	53	48
<b>Total partiel</b>	<b>1199</b>	<b>1155</b>
<b>Examen externe du programme</b>	---	125
<b>Total des dépenses centrales</b>	<b>9336</b>	<b>8778</b>

Figure 24. Budget sommaire des dépenses (en milliers de dollars) par programme et par fonction.

	1986	1985
<b>Sans restriction</b>		
USAID (Etats-Unis)	2525	2490
Banque mondiale (BIRD)	1400	1200
Royaume-Uni	794	546
CIDA (Canada)	730	686
Allemagne fédérale	510	528
Suisse	474	415
Japon	351	201
Suède	290	237
Pays-Bas	280	249
Belgique	255	135
Norvège	250	234
Australie	230	281
Banque africaine de développement (BAD)	190	—
Italie	170	164
France	90	61
Danemark	60	47
<b>Total des dons sans restriction</b>	<b>8599</b>	<b>7474</b>
<b>Avec restriction</b>		
Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD)	766	690
Italie	500	500
Japon	150	—
Belgique	95	110
Fondation Rockefeller	33	—
<b>Total des dons avec restriction</b>	<b>1544</b>	<b>1300</b>
<b>Total général des dons</b>	<b>10143</b>	<b>8774</b>

Figure 25. Financement central (sommaire), par donateurs, en milliers de dollars.

	1986	1985
<b>RESSOURCES</b>		
Financement central		
Sans restriction		
Dons sans restriction	8599	7474
Revenu affecté dans l'année	<u>583</u>	<u>289</u>
Total du financement sans restriction	9182	7763
Total du financement avec restriction	<u>1544</u>	<u>1300</u>
Total du financement avec ou sans restriction	10726	9063
Transfert au capital	<u>(954)</u>	<u>(285)</u>
Financement net avec ou sans restriction	<b>9772</b>	<b>8778</b>
Capital		
Transféré du financement central	954	285
Solde non dépensé de l'année précédente	278	419
Solde des fonds de roulement	823	778
Solde des fonds autorenouvelables de l'année précédente	<u>100</u>	<u>100</u>
Total du capital	<b>2155</b>	<b>1582</b>
Opérations spéciales		
Bêtes sauvages	156	167
Trypanotolérance	<u>296</u>	<u>137</u>
Total des opérations spéciales	<b>452</b>	<b>302</b>
<b>TOTAL DES RESSOURCES</b>	<b>12379</b>	<b>10664</b>
<b>AFFECTATIONS</b>		
Fonctionnement central	9336	8778
Capital	954	426
Opérations spéciales	452	304
Reliquats:		
Central sans restriction	714	278
Fonds de roulement	823	778
Fonds autorenouvelables	<u>100</u>	<u>100</u>
<b>TOTAL DES AFFECTATIONS</b>	<b>12379</b>	<b>10664</b>

Figure 26. Budget sommaire des ressources (en milliers de dollars) et de leur affectation.

	1986	1985
<b>AVOIRS</b>		
Avoirs fixes		
Terrain et bâtiments	10671	10125
Outillage scientifique	5415	5040
Avoirs divers	1869	1943
Compagnie subsidiaire:		
Investissement	1786	1786
Prêt à long terme	10	---
Total partiel	<b>19751</b>	<b>18894</b>
Fonds autorenewelables		
Prêts	51	93
Encaisse	49	7
Total partiel	<b>100</b>	<b>100</b>
Avoirs actuels nets	<u>1537</u>	<u>1056</u>
<b>TOTAL DES AVOIRS EN SERVICE</b>	<b>21388</b>	<b>20050</b>
<b>BILAN DES FONDS</b>		
Capital	19751	18894
Fonctionnement	823	778
Excédent du financement sans restriction	714	278
Fonds autorenewelables	<u>100</u>	<u>100</u>
<b>TOTAL DES FONDS</b>	<b>21388</b>	<b>20050</b>

Figure 27. Bilan au 31 décembre 1986.