

La trypanosomose de poussins éclos après inoculation chorio-allantoïdienne,

PAR

Louis van den BERGHE.

1. — *Historique.*

L'emploi de l'œuf embryonné de poule comme milieu de culture d'agents pathogènes paraît remonter aux inoculations de bacilles lépreux effectués par E. Weil en 1905. Peu de temps après, en 1907, Borrel et Levaditi obtenaient aussi sur embryons de poulet le développement du spirochète parasite de la poule, *Borrelia* (*Spirochaeta*) *gallinarum*. Murphy et Rous, en 1911, utilisèrent le même procédé pour la transmission du sarcome infectieux de Rous, et Murphy étendit ces expériences d'inoculation au sarcome de Jensen du rat.

Pendant près de 20 ans la méthode ne fut guère signalée en pathologie expérimentale et ce n'est qu'en 1931 que Goodpasture et Woodruff démontrèrent que la membrane chorio-allantoïde de l'embryon de poule constituait un milieu très favorable de culture de certains virus filtrants, notamment de la variole des Gallinacés, de la vaccine et de l'herpès fébrile. De nombreux virus filtrants ont depuis lors été inoculés avec succès et passés en série sur la membrane chorio-allantoïde de l'œuf de poule embryonné, du 10^e au 12^e jour de l'incubation. Burnet dans une monographie parue en 1936 et dans un chapitre du *Handbuch der Virusforschungen*, publié par Doerr et Hallauer en 1938, a donné la liste déjà fort longue des virus de l'homme et des animaux qui se cultivent sur embryon de poulet en déterminant ou non des lésions macroscopiques sur

la membrane chorio-allantoïde. Il est dès l'abord curieux de noter que l'embryon de poulet n'est pas seulement sensible aux tumeurs aviaires (sarcome de Rous) mais aussi à certaines tumeurs hétérologues (sarcome de Jensen) et qu'il présente la même possibilité de développement pour des virus filtrants d'origine hétérologue aussi bien qu'aviaires. L'embryon de poulet paraît ainsi dépourvu d'une résistance à l'infection qui ne se développe qu'ultérieurement chez le poussin après l'éclosion.

Les *Rickettsia* aussi se multiplient sur la membrane chorio-allantoïde d'embryon de poule ainsi que le démontrèrent Zinsser, Castaneda et Zia (cité par Zinsser et Bayne Jones dans leur *Textbook of Bacteriology*), puis Bruynoghe et Jadin (1936). Pour la culture d'agents pathogènes dont la multiplication est liée à la présence de cellules vivantes, tels que les ultravirus et les *Rickettsias*, l'inoculation à l'embryon de poulet dans l'œuf au cours de l'incubation s'est assez largement substituée aux cultures dites « en tissus ». Ce n'est qu'en 1938 que l'embryon de poulet fut utilisé à nouveau pour les essais de culture de spirochètes et de protozoaires. Bessemans et de Meirsmann ne réussirent pas à infecter l'embryon de poulet avec *Treponema pallidum*. Par contre, Nelson obtenait le développement de *Trichomonas foetus*, et Morrow, Syverton, Stiles et Berry celui de *Leptospira ictero-hemorrhagiae*. D'autre part, Biocca observait l'infection d'embryons du 8^e au 14^e jour d'incubation avec *Trypanosoma brucei*. Plusieurs travaux, dont il est difficile d'établir la priorité respective, parurent ensuite en 1939. Chabaud démontrait le développement de *Borrelia duttoni*, *Leptospira ictero-hemorrhagiae* et de *Trypanosoma rhodesiense*, *brucei* et *equinum*. Hogue, ainsi que Levine, Bradley et Graham inoculaient avec succès, l'un *Trichomonas foetus*, les autres *Trichomonas foetus* et *Trichomonas muris*. Longley,

Au moment où ce travail était sous presse, j'ai pris connaissance d'un *referate* du *Zentr. Blatt für Bakt. und Parasit.*, n^{os} 13-14, 4 juin 1943, concernant la culture réussie sur embryon de poulet de *Treponema pallidum* par Hallauer, C. et Kuhn, H. « Dauerpassagen von *Leptospira icterogenes* und *Spirochaeta pallida* (Truffi) in hühnerembryo. » *Zeitschr. für Hygiene*, t. 124, 1942.

Clausen et Tatum infectaient les embryons de poulet avec *Trypanosoma rhodesiense*, *equiperdum*, *brucei*, *evansi* et *hippicum*, tandis que *Trypanosoma lewisi* ne se développait qu'imparfaitement. Mitchell, Walker, Heath et MacKercher obtenaient des infections avec *Trypanosoma equiperdum*. Roubaud et Romana réussissaient l'inoculation de *Trypanosoma cruzi*, *gambiense* et *dimorphon*. En 1940, Hallauer et Kuhn publiaient leurs expériences, sans doute contemporaines des précédentes, avec *Trypanosoma brucei*.

Pendant l'année 1939 j'avais effectué de très nombreuses inoculations de protozoaires sur membrane chorio-allantoïde. Les événements de 1939-1940 différèrent la publication de mes expériences. En 1940, mon collègue Dubois signalait cependant la culture réussie dans mon service du *Spirillum minus*. En 1941, je publiais un cas d'infection à *Trypanosoma evansi* chez un poussin éclos après l'inoculation chorio-allantoïdienne. Le présent travail se rapporte plus spécialement à cette question dont l'étude a été poursuivie avec le même *Trypanosome* pendant les années 1941 et 1942. D'autre part, les inoculations effectuées de 1939 à 1942 avec des souches de protozoaires, étudiées par J. Rodhain, font l'objet d'un deuxième travail publié par cet auteur et moi-même.

2. — *Technique.*

C'est entre le 10^e et le 14^e jour d'incubation que l'inoculation des embryons de poulet se présente le plus favorablement. Dès le 10^e jour, en effet, la membrane chorio-allantoïde est constituée. Produit de l'accolement du chorion et de l'allantoïde, elle entoure presque complètement le contenu de l'œuf. Elle se trouve partout accolée immédiatement en dessous de la membrane coquillière. Organe essentiellement respiratoire, la membrane chorio-allantoïde est largement irriguée par deux artères principales et trois veines dont deux correspondent aux artères tandis que la troisième, dénommée veine allantoïdienne, dessine un cours séparé. La membrane allantoïde se compose essentiellement de trois couches très minces correspondant aux trois feuillets embryonnaires. Un feuillet ectodermique (cho-

Clausen et Tatum infectaient les embryons de poulet avec *Trypanosoma rhodesiense*, *equiperdum*, *brucei*, *evansi* et *hippicum*, tandis que *Trypanosoma lewisi* ne se développait qu'imparfaitement. Mitchell, Walker, Heath et MacKercher obtenaient des infections avec *Trypanosoma equiperdum*. Roubaud et Romana réussissaient l'inoculation de *Trypanosoma cruzi*, *gambiense* et *dimorphon*. En 1940, Hallauer et Kuhn publiaient leurs expériences, sans doute contemporaines des précédentes, avec *Trypanosoma brucei*.

Pendant l'année 1939 j'avais effectué de très nombreuses inoculations de protozoaires sur membrane chorio-allantoïde. Les événements de 1939-1940 différèrent la publication de mes expériences. En 1940, mon collègue Dubois signalait cependant la culture réussie dans mon service du *Spirillum minus*. En 1941, je publiais un cas d'infection à *Trypanosoma evansi* chez un poussin éclos après l'inoculation chorio-allantoïdienne. Le présent travail se rapporte plus spécialement à cette question dont l'étude a été poursuivie avec le même *Trypanosome* pendant les années 1941 et 1942. D'autre part, les inoculations effectuées de 1939 à 1942 avec des souches de protozoaires, étudiées par J. Rodhain, font l'objet d'un deuxième travail publié par cet auteur et moi-même.

2. — *Technique.*

C'est entre le 10^e et le 14^e jour d'incubation que l'inoculation des embryons de poulet se présente le plus favorablement. Dès le 10^e jour, en effet, la membrane chorio-allantoïde est constituée. Produit de l'accolement du chorion et de l'allantoïde, elle entoure presque complètement le contenu de l'œuf. Elle se trouve partout accolée immédiatement en dessous de la membrane coquillière. Organe essentiellement respiratoire, la membrane chorio-allantoïde est largement irriguée par deux artères principales et trois veines dont deux correspondent aux artères tandis que la troisième, dénommée veine allantoïdienne, dessine un cours séparé. La membrane allantoïde se compose essentiellement de trois couches très minces correspondant aux trois feuillets embryonnaires. Un feuillet ectodermique (cho-

tion), composé d'une seule couche de cellules aplaties, et en contact intime avec un réseau très riche de capillaires, se trouve relié par des cellules de soutien mésodermiques au feuillet endodermique (allantoïde), lui aussi constitué par une couche unique de cellules.

Les premiers expérimentateurs poussèrent leurs injections à l'intérieur de l'œuf embryonné sans rechercher une localisation particulière. Murphy et Rous inoculaient le virus dans la cavité extra-embryonnaire limitée par la couche de cellules mésodermiques. Elmendorf et Smith visaient les tissus embryonnaires eux-mêmes, aperçus au cours du mirage des œufs. Bruynoghe et Jadin injectaient le produit virulent avec une pipette directement dans un vaisseau allantoïdien après ouverture d'une fenêtre dans la coquille de l'œuf. Dans le but d'éviter tout traumatisme, plusieurs expérimentateurs cherchèrent à séparer la membrane chorio-allantoïde de la membrane coquillière et de constituer ainsi par l'affaissement de la première une poche à air artificielle se substituant à celle que l'on observe normalement au pôle arrondi de l'œuf de poule. Goodpasture découpait sur le flanc de la coquille une ouverture carrée et, après incision de la membrane coquillière, il déposait le produit d'inoculation sur la membrane chorio-allantoïde ainsi mise à nu. L'ouverture était ensuite obturée par une lamelle de verre lutée à la paraffine-vaseline. Burnet simplifia cette méthode. Avec les disques rotatifs qu'utilisent les stomatologistes, il coupe de deux traits en croix l'extrémité arrondie de l'œuf à l'endroit de la poche à air, puis il délimite en trois traits une fenêtre triangulaire sur le flanc de la coquille. La surface découpée triangulaire, de près d'un centimètre et demi de côté, est ensuite soulevée à l'aide d'une aiguille et la membrane coquillière fendue. Grâce à la contre ouverture déterminée au préalable au pôle arrondi de l'œuf, la membrane chorio-allantoïde s'affaisse alors et une cavité aérienne nouvelle se constitue sous la fenêtre de la coquille à la partie supérieure de l'œuf couché sur le flanc. Une lamelle de verre recouvre ensuite l'ouverture triangulaire. Une fenêtre est ainsi constituée qui permet l'observation par transparence de la membrane chorio-allantoïde, avantage mar-

qué pour certaines infections à virus qui déterminent des lésions, visibles macroscopiquement, de cette membrane.

Dans mes expériences d'inoculation chorio-allantoïdienne de virus (fièvre jaune, érythroblastose aviaire) de spirochétidés et de protozoaires, j'ai appliqué une technique simple qui n'utilise qu'une aiguille trépan ou une petite fraise de stomatologiste. A l'aide de l'un de ces instruments une perforation de la coquille est pratiquée au pôle arrondi de l'œuf au milieu de la poche à air repérée par le mirage. Une autre perforation de la coquille est ensuite effectuée sur le flanc de la coquille de l'œuf couché. A l'aide d'une poire en caoutchouc dont l'orifice est appliqué étroitement autour de la perforation de la poche à air, une succion est exercée. Grâce au mirage on observe aussitôt le déplacement de la poche à air de l'extrémité arrondie de l'œuf couché vers la paroi supérieure en dessous de l'orifice ménagé dans la coquille. Le diamètre de cet orifice permet le passage d'une aiguille du type intradermique n° 5, écourtée à 0,5 cm. et montée sur une seringue de 1 cc. graduée en 50 divisions. Cette aiguille écourtée peut être enfoncée au maximum, ce qui assure automatiquement une profondeur de l'injection toujours égale. D'autre part, le piston est garni d'un pas de vis et muni d'une virole d'arrêt dont chaque tour complet sur le piston correspond à un volume de 0,02 cc. Un dixième de centimètre cube de liquide infectant — sang dilué avec du liquide physiologique de Tyrode, ou milieu de culture — peut être injecté sans risque dans la cavité aérienne artificiellement créée. Pour injecter ce volume avec toute la précision et la rapidité souhaitables, il suffit de dévisser la virole de cinq tours complets après l'injection précédente, puis de pousser le piston jusqu'à la butée de la virole. Toutes ces manipulations sont effectuées avec des instruments stériles sur des œufs passés à l'alcool et à l'intérieur d'une hotte stérilisée. Les deux orifices sont oblitérés à la paraffine et les œufs remis aussitôt à l'incubateur entre 37° et 39° de température.

Par cette méthode d'inoculation la poche d'air artificielle ne se maintient pas comme par la méthode de Burnet sur le flanc supérieur de l'œuf couché, mais elle reprend assez rapidement

sa position normale au pôle arrondi. Lorsque les germes inoculés ne déterminent pas de lésions visibles macroscopiquement ou de lésions histologiques de la membrane chorio-allantoïde, cette particularité de la méthode ne présente guère d'inconvénient. L'orifice d'injection peut être débouché aseptiquement dans les jours qui suivent l'inoculation afin de permettre des ponctions exploratrices.

Afin de rendre ces ponctions plus précises et de prélever notamment avec certitude du sang dans le réseau capillaire de la membrane chorio-allantoïde, j'ai été amené à modifier légèrement la méthode initiale. Après la perforation de l'orifice supéro-latéral de l'œuf couché, j'utilise la même aiguille trépan pour faire sauter quelques petits fragments de coquille. Une ouverture irrégulière d'un demi-centimètre de diamètre est ainsi constituée. La membrane coquillière est enlevée à cet endroit à l'aide d'une pince et de petits ciseaux. L'ouverture ainsi obtenue assure l'affaissement permanent de la membrane chorio-allantoïde. Elle permet, en outre, l'observation d'un champ suffisant que pour permettre lors des examens ultérieurs la ponction d'un petit vaisseau à l'aide d'une micropipette. La fermeture de l'orifice ne nécessite pas l'emploi d'une lamelle de verre. Elle est réalisée très aisément avec de la paraffine fondue, puis partiellement solidifiée par refroidissement à la face inférieure d'une petite spatule métallique. Un ou deux glissements de la spatule au-dessus de l'orifice obture parfaitement l'ouverture de la coquille. Cette technique ainsi modifiée joint à tous les avantages de la technique de Burnet celui d'une plus grande rapidité d'exécution.

3. — *Trypanosomose de poussins éclos après l'inoculation chorio-allantoïdienne.*

Tous les auteurs considèrent que l'inoculation des trypanosomes réussit du 8^e au 14^e jours d'incubation, l'embryon de poulet ainsi infecté mourant environ sept jours après l'inoculation, soit de six à un jour avant l'éclosion. Après le 16^e jour d'incubation l'infection ne semble plus réussir. Cependant Mitchell, Walker, Heath et McKercher inoculant avec Trypa-

nosoma equiperdum deux embryons de 16 jours observent l'apparition de trypanosomes trois jours après l'éclosion et la mort de ces poussins deux jours après l'infection. Une inoculation pratiquée par ces mêmes auteurs à des embryons de 12 jours détermine une infection suivie de mort le 19^e jour. L'examen du sang ne révèle pas la présence de trypanosomes mais de « petits corps mobiles » ne ressemblant que peu à des trypanosomes après coloration. Il est permis de penser qu'il s'agissait là de formes d'involution dites « trypanolytiques », car l'injection du sang de ces embryons transmet la trypanosomose au rat et au cobaye.

Si l'embryon de poulet paraît très sensible à certains trypanosomes, le poussin éclos et la poule adulte, par contre, résistent aux inoculations ou ne présentent, dans des conditions difficiles à déterminer, que des infections discrètes, inapparentes, mises en évidence seulement par l'inoculation à un animal sensible. Ces faits sont connus depuis les travaux déjà anciens de Goebel (1906, 1908), de Mesnil et ses collaborateurs (1906, 1912, 1936), de Cardonna (1937), de Kujungieff (1937), de Biocca (1938), de Chabaud (1939) et de Roubaud et Provost (1939, 1940). Il semble donc que la réceptivité à certains trypanosomes soit très différente chez l'embryon de poulet et chez le poussin éclos. Aucun auteur, pas plus d'ailleurs que la confrontation des divers travaux publiés sur la question, ne dégage les facteurs qui déterminent ce curieux renversement de la réceptivité avant et après l'éclosion du poulet. Aussi me suis-je attaché particulièrement à l'étude du mécanisme de l'infection de l'embryon de poulet. Dès 1939, j'ai limité ces recherches aux inoculations de *Trypanosoma evansi*, parce que les septicémies obtenues avec ce trypanosome étaient particulièrement constantes et massives. Deux souches furent utilisées : la première comprenant des formes toutes kinétoplastiques, isolée à Anvers chez un orang-outang mort au Jardin Zoologique peu après son arrivée de Sumatra ; l'autre contenant 50 % environ de formes akinétoplastiques et appartenant à la collection de l'Institut Prince Léopold.

En bref, mes recherches aboutirent d'abord aux constatations

faites par Biocca et Chabaud. L'embryon de poulet est très sensible à l'infection entre les 8^e et 14^e jours d'incubation. Des inoculations effectuées les 15^e et 17^e jours d'incubation ne provoquèrent aucune infection. Les trypanosomes apparaissent dans le sang de l'embryon le 4^e jour qui suit l'inoculation et la septicémie croît jusqu'au 7^e jour. Les formes d'involution sont certainement très rares, plus que ne l'admet Biocca et presque autant que ne l'affirme Chabaud. Les embryons infectés meurent le plus souvent avant l'éclosion, le 8^e ou 9^e jour après l'inoculation. Ce fait n'est, cependant, pas absolument constant comme le prétendent Biocca et Chabaud. J'ai observé, en effet, l'éclosion de poussins inoculés au 10^e jour, au 14^e jour et au 17^e jour. Tous ces poussins ne présentaient aucun trypanosome dans le sang à l'éclosion. Si l'on tient compte du fait qu'après le 14^e jour d'incubation l'infection ne semble plus réussir, seuls les poussins inoculés au 10^e jour d'incubation et qui provenaient de lots où des contrôles révélèrent le succès de l'inoculation, doivent être retenus comme représentant des éclosions après infection probable.

Ces résultats, divergeant de ceux signalés par Biocca et Chabaud, m'incitèrent à faire varier les conditions d'expérience dans le but d'obtenir une infection retardée de l'embryon de poule et une éclosion de poussins en phase évolutive de l'infection. Le hasard, plus que des conditions précises d'expérience, devait servir mes desseins. Un poussin provenant d'un lot de six embryons inoculés au 10^e jour d'incubation avec un 2^e passage de *T. evansi* présentait à l'éclosion une septicémie massive (planche photographique n° 1). L'éclosion de ce poussin démontrait que la barrière qui sépare l'embryon du jeune poulet n'est pas aussi infranchissable qu'il ne semble pour la trypanosome. Les observations faites chez ce poussin trypanosé ont fait l'objet d'une note parue en 1941. Depuis lors, un deuxième et un troisième poussins sont nés après l'inoculation chorio-allantoïdienne, qui présentèrent de nombreux trypanosomes au moment de l'éclosion et dans les jours qui suivirent. Le cas précédemment signalé s'avérant ainsi moins fortuit qu'il

ne semblait au premier abord, j'ai jugé utile d'analyser les trois observations dont voici les données essentielles.

1° *Poussin trypanosé n° 1.*

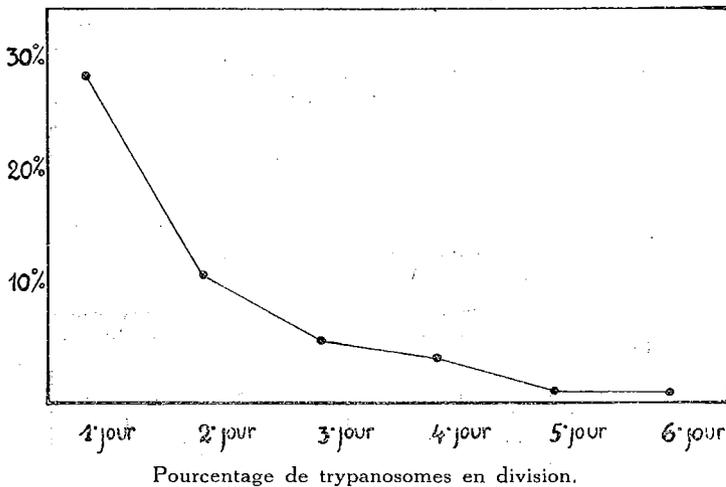
Un lot de six embryons fut inoculé au 10^e jour d'incubation avec un deuxième passage sur embryon de *Trypanosoma evansi*. Un embryon du lot fut examiné quatre jours après l'inoculation; il était faiblement positif. Un 2^e embryon tué après six jours ne montrait aussi que de très rares trypanosomes. Un 3^e embryon examiné le 7^e jour était négatif à l'examen direct, mais positif par injection de son sang à la souris. Au cours de ce passage, pour des raisons qui m'échappent, les infections apparaissaient donc considérablement différées. Ce fait explique sans doute pourquoi, sur les trois embryons restants, deux moururent le jour de l'éclosion, tandis que le 3^e naissait avec une infection comparable à celle que l'on trouve normalement chez l'embryon sept jours après l'inoculation. Chez ce poussin les trypanosomes restèrent abondants jusqu'au 4^e jour pour diminuer progressivement et disparaître le 9^e jour, même après inoculation de sang à la souris. Les numérations des formes non en division et des formes en division démontrèrent une réduction rapide du nombre de ces dernières. Tout trypanosome ayant l'un de ses éléments dédoublé (kinétoplaste, membrane, noyau ou flagelle) était considéré comme forme

Trypanosomose du poussin n° 1 éclos après inoculation chorio-allantoïdienne

Jours suivant l'éclosion	Nombre de Trypanosomes examinés	Trypanosomes non en division			Trypanosomes en division		
		Kinétoplastiques	Akinétoplastiques	Total	Kinétoplastiques	Akinétoplastiques	Total
1 ^{er} . . .	1000	411	320	731	157	112	269
2 ^e . . .	1000	485	401	886	70	44	114
3 ^e . . .	1000	495	450	945	29	26	55
4 ^e . . .	1000	480	480	960	24	16	40
5 ^e . . .	500	280	215	495	5	—	5
6 ^e . . .	100	56	43	99	1	—	1
7 ^e . . .	très rares	—	—	—	—	—	—
8 ^e . . .	» »	—	—	—	—	—	—
9 ^e . . .	absence de Trypanosomes — Inoculation à la souris, négative.						

en division. Ce critère paraît plus tangible que celui du coefficient plus grand de variation de longueur des trypanosomes en division, mesuré par Taliaferro. Dès le 5^e jour aussi les formes d'involution apparaissaient nombreuses : trypanosomes incurvés, en têtard, subsphériques, à flagelle très court, et peu colorés (planche photographique n° 2). Le poussin présentait dans l'intervalle toutes les apparences de santé. Huit jours après la disparition des trypanosomes il succombait, sans symptômes prémonitoires, à une mort dont la cause ne put être déterminée mais qui parut banale. Aucun trypanosome ou corps trypanolytique ne fut retrouvé dans aucun organe à l'autopsie.

Une poule fut inoculée, ainsi que quatre poussins, avec les trypanosomes du poussin trypanosé, mais sans que jamais le sang ne soit devenu positif, soit à l'examen direct, soit après inoculation à la souris. Les observations effectuées chez le poussin trypanosé n° 1 sont résumées dans le tableau et le graphique suivant.



Poussin trypanosé n° 2.

La publication des observations effectuées sur le poussin n° 1 se justifiait en raison de la rareté extrême de cette trypanosomose du poussin éclos, observée pour la première fois après plus de deux cents inoculations chorio-allantoïdiennes de trypanosomes virulents. Cependant, peu de temps après, il m'advint d'observer un deuxième et un troisième cas semblables.

Le poussin trypanosé n° 2 provenait d'un lot de quatre œufs inoculés au dixième jour de l'incubation. Un embryon tué le quatrième jour après l'inoculation était négatif. Deux embryons examinés le sixième jour montraient de très rares trypanosomes. L'un d'eux tué le septième jour ne présentait encore qu'une infection discrète. L'autre fut examiné ainsi que le quatrième le 9^e jour suivant l'inoculation. Les deux embryons présentaient de nombreux trypanosomes. L'un d'eux mourut le lendemain de cet examen, soit un jour avant

l'éclosion, tandis que l'autre donna naissance à un poussin présentant une infection sanguine massive de trypanosomes. Le sang fut examiné tous les jours jusqu'au 8^e jour où survint la mort accidentelle du poussin. Pendant les cinq premiers jours de l'observation j'ai pu noter dans le sang un nombre élevé de trypanosomes et un rapport identique de formes non en division et de formes en division. A partir du sixième jour, la régression du nombre des formes en division et la diminution du nombre total des trypanosomes fut notable, ainsi que l'indique le tableau suivant.

*Trypanosomose du poussin n° 2 éclos après inoculation
chorio-allantoïdienne*

Jours suivant l'éclosion	Nombre de Trypano- somes examinés	Trypanosomes non en division			Trypanosomes en division		
		Kinéto- plas- tiques	Akinéto- plas- tiques	Total	Kinéto- plas- tiques	Akinéto- plas- tiques	Total
1 ^{er} . .	1000	673	206	879	92	29	121
2 ^e . .	1000	646	220	866	105	29	134
3 ^a . .	1000	595	220	815	150	35	185
4 ^e . .	1000	732	130	862	120	20	140
5 ^e . .	1000	635	245	880	90	30	120
6 ^e . .	1000	662	266	928	62	10	72
7 ^e . .	500	331	118	449	40	11	51
8 ^e . .	tué accidentellement						

Comme chez le poussin n° 1 quelques corps trypanolytiques furent observés au cours des examens. L'inoculation des trypanosomes du poussin trypanosé n° 2 à une poule et à trois poussins resta négative.

Poussin trypanosé n° 3.

Ce poussin appartenait à un lot de six œufs inoculés également au 10^e jour d'incubation. Grâce au perfectionnement signalé plus haut de la technique, l'infection put être suivie régulièrement tous les jours chez les six embryons jusqu'à leur mort naturelle ou jusqu'à leur éclosion. Cinq jours après l'inoculation aucun prélèvement n'était positif à l'examen direct. Au sixième jour cinq embryons sur six étaient infectés et le 7^e jour tous présentaient un nombre assez réduit de trypanosomes dans le sang. Les 8^e et 9^e jours l'infection était massive. Le 10^e jour trois embryons présentaient une infection en déclin. Le

11^e jour après l'inoculation, soit le jour de l'éclosion, deux poussins naquirent. L'un d'eux présentait de nombreux trypanosomes dans le sang. L'autre était négatif et son sang inoculé à la souris ne détermina aucune infection. Les quatre autres embryons de poulet étaient morts dans l'œuf, peut-être depuis la veille déjà. Leur sang ne présentait aucun trypanosome et ne développa aucune infection par inoculation à la souris.

Le poussin trypanosé n^o 3 ne présenta un grand nombre de trypanosomes que pendant les deux jours suivant l'éclosion. Dès le troisième jour la disparition des trypanosomes est presque complète. Quelques très rares trypanosomes, soit un ou deux par frottis, sont découverts les 3^e, 4^e et 5^e jour. Un corps trypanolytique est également observé ce 5^e jour. Le 6^e jour on ne trouve aucun trypanosome et le 7^e jour l'inoculation de sang à la souris est négative. Le poussin se développa bien par la suite sans présenter de rechute. Le tableau suivant relate la marche de l'infection chez le poussin n^o 3.

Trypanosomose du poussin n^o 3 éclos après inoculation chorio-allantoïdienne

Jours suivant l'éclosion	Nombre de Trypanosomes examinés	Trypanosomes non en division			Trypanosomes en division		
		Kinétoplastiques	Akinétoplastiques	Total	Kinétoplastiques	Akinétoplastiques	Total
1 ^{er} . . .	1000	612	231	843	105	52	157
2 ^e . . .	1000	710	164	874	103	23	126
3 ^e . . .	très rares trypanosomes						
4 ^e . . .	très rares trypanosomes						
5 ^e . . .	très rares trypanosomes (1 corps trypanolytique)						
6 ^e . . .	absence de trypanosomes						
7 ^e . . .	absence de trypanosomes (inoculation à la souris, négative)						
le poussin se développe bien et la poule adulte est tuée à l'âge de cinq mois pour examen sérologique.							

L'observation de ces trois cas nous montre que la trypanosomose du poussin après inoculation chorio-allantoïdienne n'est pas d'une rareté extrême. Il est difficile d'indiquer le pourcentage d'éclosions de poussins trypanosés, parce qu'un grand nombre d'embryons de poulet a été tué, au cours des examens,

avant le terme de l'incubation. Près de deux cents œufs ont été inoculés avec *Trypanosoma evansi*, dont plus de cent au 10^e jour d'incubation, les autres entre les 14^e et 17^e jours d'incubation. L'éclosion de poussins trypanosés n'a jamais été observée qu'après une inoculation effectuée au 10^e jour d'incubation. Dans les trois cas le début de l'infection a été nettement différé, les trypanosomes n'étant très nombreux que sept à huit jours après l'inoculation et non après quatre jours ainsi qu'il advient d'habitude. On comprend de la sorte comment certains embryons présentaient une infection massive au moment de l'éclosion. Chez les embryons inoculés entre les 14^e et 17^e jours d'incubation je n'ai observé aucune éclosion de poussin trypanosé. Les embryons meurent avant l'éclosion ou naissent indemnes. Il serait cependant intéressant en dépit de ces premiers échecs de répéter ces tentatives, en particulier aux environs du 14^e jour d'incubation où l'inoculation peut encore déterminer une infection de l'embryon. Je n'ai donc pas pu reproduire la curieuse observation de Mitchell, Walker, Heath et McKercher (1939), qui après une inoculation de *Trypanosoma equiperdum* au 16^e jour d'incubation virent apparaître des trypanosomes chez deux poussins trois jours après l'éclosion, et la mort survenir deux jours après. Je ne sais si ces auteurs ont publié un travail plus détaillé ultérieurement. Il semble que la souche employée ait été très virulente et que la trypanolyse se soit accompagnée de nombreux corps trypanolytiques, bien que ces auteurs n'utilisent pas ce terme mais celui de « petits corps mobiles ». Il est possible que les poussins se trouvaient en phase de trypanolyse au moment de l'éclosion. L'apparition des trypanosomes trois jours après correspondrait dans cette hypothèse à une reprise de l'infection. La note très succincte dont j'ai seule connaissance n'apprend rien à ce sujet, si bien qu'il n'est guère possible de comparer cette observation avec les miennes.

Dès l'éclosion des trois poussins trypanosés dans mes expériences les trypanosomes étaient nombreux (voir la planche photographique). Une inhibition très nette de la multiplication de ceux-ci pouvait être aussitôt observée. Le phénomène était

particulièrement net chez le poussin n° 1, et extrêmement rapide chez le poussin n° 3. Il y a donc une différence de comportement radicale entre l'embryon de poulet sensible au trypanosome, et le poussin résistant dès l'éclosion, autant que la poule adulte, à l'infection. L'analogie est frappante avec les infections du jeune rat sensible et du rat adulte résistant à l'infection par *Trypanosoma lewisi*. Taliaferro a invoqué dans ce cas l'existence d'un anticorps inhibiteur de la reproduction, appelé par lui « ablastin » et que le jeune rat, à l'encontre du rat adulte, serait incapable de produire. Avant d'interpréter le mécanisme de la trypanosomose expérimentale de l'embryon de poule et du poussin, et de l'établir ou non sur des bases immunologiques, j'ai cru utile d'étudier l'action *in vitro* du plasma d'embryon de poulet et du sérum de poule sur *Trypanosoma evansi*.

4. — Action « *in vitro* » du plasma d'embryon
et du sérum de poule sur *Trypanosoma evansi*.

Tandis que l'embryon de poulet paraît extrêmement sensible à *Trypanosoma evansi*, il semble bien que le poussin éclos avec une infection sanguine, développe la même résistance à *Trypanosoma evansi* que la poule adulte. Dès lors l'étude du comportement *in vitro* de *Trypanosoma evansi* s'avérait intéressante vis-à-vis de plasma citraté d'embryon de poulet normal, de sérum de poule normale ainsi que de poule née avec des trypanosomes ou inoculée avec ceux-ci.

Technique : Dix gouttes de liquide de Tyrode étaient mélangées à deux gouttes de plasma ou de sérum et à une goutte de sang d'embryon de poulet infecté par des *Trypanosoma evansi*. La mobilité des trypanosomes était observée au microscope, à la température ordinaire du laboratoire. Dès que celle-ci avait entièrement disparue dans l'un des mélanges mis en expérience, deux souris étaient inoculées intrapéritonéalement avec chacun des divers mélanges. C'est en présence du sérum de poule normale après des temps variant de 1/4 d'heure à 3 heures que l'immobilité complète de tous les trypanosomes fut toujours observée en premier lieu. A ce moment en présence de plasma citraté d'embryon ainsi qu'en présence de sérum de poule

inoculée préalablement, quelques trypanosomes mobiles se voyaient encore d'habitude à l'examen microscopique.

Le plasma citraté était prélevé dans le cœur des embryons de poulet normaux au 17^e jour d'incubation ou à la pipette dans le réseau veineux allantoïdien. Le sérum normal utilisé dans ces expériences provenait de deux poules : N 1 et N 2. Le sérum « anti-T. evansi » provenait de deux poules injectées avec des *Trypanosoma evansi*. La poule E 1 reçut une injection de sang trypanosé d'un poussin et trois injections de sang trypanosé d'embryon de poulet, chacune espacée d'une semaine, et son sang fut recueilli deux mois après la première injection. La poule E 2 reçut à des intervalles de trois jours une injection sous-cutanée de sang riche en *Trypanosoma evansi* et provenant de poussin, d'embryons de poulet et de cobaye. Son sang fut recueilli vingt jours après la première injection. Enfin l'activité du sérum du poussin infecté n° 3, éclos après inoculation chorio-allantoïdienne et devenu poule adulte de cinq mois, fut elle aussi recherchée vis-à-vis de *Trypanosoma evansi*. L'action du plasma d'embryon de poulet et du sérum de poule normale et « anti-T. evansi » fut recherchée *in vitro* au cours des huit observations que voici.

Observation n° 1 : deux verres de montre contiennent, l'un des *Trypanosoma evansi* d'embryon de poulet infecté en présence de sérum de poule normale (N 1), l'autre des *Trypanosoma evansi* en présence de sérum de poule injectée avec des *Trypanosoma* appartenant à la même espèce et à la même souche (E 1). Après une heure de contact les trypanosomes sont immobiles dans le premier verre de montre (N 1) tandis qu'ils apparaissent normaux dans le deuxième (E 1). Deux souris sont alors inoculées avec les trypanosomes ayant subi l'action du sérum E 1, et deux souris avec les trypanosomes ayant subi l'action du sérum N 1. Les souris E 1 présentent des *Trypanosoma evansi* dans le sang après 4 jours et meurent après cinq et six jours. Les souris N 1 présentent des *Trypanosoma evansi* dans le sang après dix jours et meurent après treize jours.

Observation n° 2 : trois verres de montre contiennent des *Trypanosoma evansi* d'embryon de poulet infecté, en présence de plasma citraté d'embryon de poulet normal, de sérum de la poule E 1 et de sérum de la poule normale N 1. Après une heure et quart de contact les trypanosomes sont mobiles dans les deux premiers verres de montre, tandis qu'il sont très rares et immobiles dans le troisième. Des souris sont inoculées à ce moment. Sur les quatre souris des deux premiers mélanges, trois meurent après quatre jours d'une infection

massive à *Trypanosoma evansi* (une souris est mangée le lendemain de l'inoculation). Les deux souris inoculées avec le « T. evansi-N 1 » restent indemnes pendant les quinze jours qui suivent l'inoculation et survivent.

Observation n° 3 : trois contacts sont établis, identiques à ceux de l'expérience précédente, mais avec des *Trypanosoma evansi* provenant d'un autre embryon de poulet infecté. Six souris sont injectées après trois quart d'heure d'examen *in vitro*. Seules les souris inoculées avec les « T. evansi-N 1 » survivent, tandis que les autres s'infectent le troisième jour et meurent le quatrième et cinquième jour.

Observation n° 4 : deux verres de montre contiennent des *Trypanosoma evansi* d'embryon de poulet infecté, l'un en présence de sérum de la poule E 2, l'autre en présence de sérum de la poule normale N 1. Après trois quart d'heure de contact, les trypanosomes sont mobiles dans le premier mélange et immobiles dans le second. Une souris inoculée avec les « T. evansi-E 2 » présente des trypanosomes dans le sang à partir du quatrième jour et meurt le huitième jour. Une souris inoculée avec les « T. evansi-N 1 » ne s'infecte pas.

Observation n° 5 : deux verres de montre contiennent des *Trypanosoma evansi*, l'un en présence de sérum de la poule E 2, l'autre en présence de sérum de la poule normale N 2. Après un contact très court d'un quart d'heure les trypanosomes, déjà très peu vifs au départ de l'expérience, sont immobiles dans le mélange contenant le sérum de poule normale. Ils bougent encore faiblement dans le mélange contenant le sérum de la poule E 2. Deux souris injectées avec les « T. evansi-N 2 » sont normales quinze jours après l'inoculation, tandis que deux souris inoculées avec les « T. evansi-E 2 » meurent après quatre jours.

Observation n° 6 : deux contacts sont établis, identiques à ceux de l'expérience précédente (*Observation n° 5*) mais avec des *Trypanosoma evansi* provenant d'un autre embryon de poulet infecté. Quatre souris sont injectées après une demi-heure de contact *in vitro*. Les deux souris inoculées avec les « T. evansi-N 2 » immobiles survivent après 30 jours, tandis que les deux autres, inoculées avec les « T. evansi-E 2 », s'infectent le septième jour après l'inoculation et meurent le huitième.

Observation n° 7 : deux verres de montre contiennent des *Trypanosoma evansi* provenant d'un embryon de poulet infecté, l'un en présence de sérum de la poule normale N 1, l'autre en présence de sérum de la poule ex-poussin n° 3. Après deux heures de contact quelques trypanosomes bougent encore faiblement dans les deux mélanges. Après deux heures d'attente supplémentaire la mobilité est extrêmement réduite partout. Les inoculations aux souris avec l'un et l'autre mélanges restent négatives.

Observation n° 8 : deux contacts sont établis comme dans l'expérience précédente (*Observation n° 7*), mais pour l'un d'eux en présence de sérum de la poule normale N 2. Ici aussi après un examen prolongé de cinq heures le comportement des *Trypanosomes* des deux mélanges n'est guère différent et les inoculations à la souris restent négatives.

Il est impossible de tirer des conclusions valables du nombre très restreint d'observations réunies ici. En d'autres circonstances plus favorables il eût fallu comparer entre eux les sérums de nombreuses poules normales ainsi que les sérums prélevés avant et après les injections de *Trypanosoma evansi*. Etant donné la possibilité de grandes variations individuelles dans le pouvoir trypanocide des sérums, je ne crois pas que l'on puisse retenir et interpréter le fait, cependant constant dans mes observations, que le pouvoir trypanocide du sérum normal semble plus élevé que celui du sérum anti Evansi. Le sérum de poule normal paraît posséder un pouvoir trypanocide très net *in vitro* sur *Trypanosoma evansi*. La poule « ex-poussin n° 3 trypanosé » s'est comportée à cet égard comme une poule normale. Par contre, il semble bien que le plasma d'embryon de poulet ait un pouvoir trypanocide très réduit, voire nul sur ce même trypanosome. Ce fait est à rapprocher de celui signalé par Yorke, Adams et Murgatroyd (1930), dans leur exposé très complet de l'action *in vitro* du sérum humain sur les trypanosomes pathogènes et suivant lequel le sérum d'adulte seul serait actif dans certains cas, celui de nouveau-né étant dépourvu de tout pouvoir trypanocide (Rosenthal et Kleemann). Ce sont là les seules conclusions qui se dégagent de ces expériences *in vitro*. Elles confirment au reste nos expériences *in vivo*.

5. — *Interprétation.*

Certains trypanosomes sont pathogènes pour l'embryon de poulet, tandis qu'ils ne déterminent qu'une infection inapparente ou même aucun parasitisme chez la poule adulte. Les auteurs qui ont établi ces faits n'ont pas étudié le mécanisme de l'infection chez l'embryon de poulet et chez la poule adulte, non plus qu'ils n'ont recherché les facteurs qui le déterminent.

L'obtention de poussins trypanosés lors de leur éclosion m'a permis d'étudier le mécanisme qui règle la sensibilité à l'infection de l'embryon et la résistance à cette même infection du poussin et de la poule. Ce mécanisme apparaît clairement. Le poussin éclos développe une résistance qui se traduit par une régression de la multiplication des trypanosomes et par une

extinction rapide de l'infection. Il est fort possible que l'embryon de poulet commence de développer cette résistance dans les derniers jours de l'incubation, soit à partir du 16^e jour et que l'on puisse ainsi expliquer l'échec des inoculations effectuées après le 17^e jour d'incubation. Si le mécanisme de l'infection semble ainsi découvert, les facteurs qui le déterminent restent obscurs. Avec Taliaferro il est opportun de rappeler les deux propositions qui forment la base immunologique de la pathogénicité des trypanosomes.

1) Vis-à-vis de trypanosomes pathogènes, les animaux réagissent ou bien sans développer de résistance (souris), ou bien en produisant périodiquement une trypanolysine (cobaye, porc, chien) qui n'est jamais définitivement efficace parce qu'elle ne tue pas tous les parasites et que ceux qui survivent se reproduisent après les crises.

2) Vis-à-vis de trypanosomes non pathogènes les animaux développent un anticorps qui inhibe complètement le pouvoir de reproduction (division cellulaire) des parasites. La production de ce facteur d'inhibition de la reproduction serait la base immunologique de la non-pathogénicité des trypanosomes.

Dans la première éventualité il y aurait production d'anticorps trypanolytiques; dans la deuxième, production d'anticorps appelés « ablastiques » par Taliaferro. La sensibilité du rat vis-à-vis de *Trypanosoma lewisi* a été interprétée de la sorte. La production d'anticorps trypanolytiques et ablastiques serait faible ou nulle chez les jeunes rats qui succombent à l'infection par *Trypanosoma lewisi*. Les rats adultes infectés par ce trypanosome seraient, par contre, bons producteurs d'ablastine et survivraient ainsi à l'infection. Le pouvoir plus développé chez le rat adulte de former l'anticorps ablastique est considéré par Culbertson et Wotton comme un facteur capital dans la résistance plus grande des rats âgés à l'infection par *Trypanosoma lewisi*. Par analogie on pourrait interpréter la sensibilité du poulet vis-à-vis de *Trypanosoma evansi* en admettant que l'embryon dans l'œuf jusque vers la fin de l'incubation est démuné du pouvoir d'élaborer des anticorps ablastiques, tandis que

peut-être peu avant l'éclosion, mais certainement après celle-ci, le poussin produit l'ablastine et surmonte l'infection.

Il semble cependant que d'autres facteurs puissent intervenir dans l'acquisition de l'immunité d'âge. Plusieurs auteurs ont démontré que le mécanisme de production des anticorps ne se déclenchait que progressivement après la naissance chez les animaux (B. Musca et A. Virono, 1933; J. Freud, 1930; L. Baumgartner, 1934). Chez les jeunes rats infectés par *Trypanosoma equiperdum* l'action de la Germanine est moins rapide que chez des rats âgés (J. T. Culbertson, 1939). Cette différence est en relation probable avec un pouvoir de phagocytose plus grand chez les rats adultes. Des rats âgés de moins de 12 jours sont sensibles à *Trypanosoma cruzi* par la bouche. Au delà de 20 jours ils résistent à ce mode d'inoculation expérimentale (M. H. Kolodny, 1939). Des rats âgés de moins de 30 jours présentent des infections à *Trypanosoma cruzi* moins intenses pendant les mois d'été que pendant l'automne, l'hiver et le printemps (M. H. Kolodny). Plutôt que d'attribuer cette influence saisonnière aux facteurs physiques environnants, il semble qu'il faille surtout envisager des variations biochimiques et des fluctuations endocrines qui peuvent déterminer dans l'organisme des troubles physiologiques se répercutant sur le mécanisme normal de production des anticorps (M. Schultz, 1934; J. H. Dingle, R. K. Meyer et E. L. Gustus, 1936). La période d'activité immunologique la plus développée coïncide avec le début de la maturité physiologique (M. H. Kolodny, 1940).

Il serait imprudent de considérer la résistance d'âge du seul point de vue immunologique. La production des anticorps n'est pas seule à se développer au cours de la maturation de l'animal. Différents facteurs participent probablement à la « résistance d'âge », qui agissent de façon croissante au cours du développement de l'animal, tels la régulation thermique, la perméabilité des tissus, les sécrétions endocrines. Les réponses réticulo-endothéliales aux organismes infectants varient aussi avec l'âge. C'est ainsi que les jeunes rats ne présentent pas comme les sujets âgés la réponse leucocytaire et monocytique à l'infection par *Trypanosoma lewisi* (C. J. Duca, 1939). Les phago-

cytes des jeunes rats exercent aussi, semble-t-il, une activité fonctionnelle moins active que ceux des rats adultes (Culbertson, 1939). Des rats adultes, mais mal développés et physiologiquement déficients, présentent d'ailleurs vis-à-vis des infections à *Trypanosoma lewisi* la même sensibilité que de jeunes rats (J. T. Culbertson et R. M. Wotton, 1939). Ce fait démontre bien que la résistance à l'infection dépend de nombreux facteurs.

Pour l'embryon de poulet l'influence de facteurs étrangers à l'immunité pourrait être particulièrement importante. Au cours de son développement surgissent en effet des modifications importantes du métabolisme général. La production d'anhydride carbonique croît pendant l'incubation à la suite de l'augmentation des contractions cardiaques et des mouvements de l'embryon dans le liquide amniotique. Jusqu'au 19^e jour l'embryon de poulet se comporte comme un animal à sang froid. La transition vers l'homéothermie se développerait graduellement suivant certains auteurs du 13^e au 18^e jour d'incubation. Après l'éclosion la température est notablement plus élevée ainsi que le métabolisme. Au début de son développement l'embryon de poulet puise ses sources d'énergie dans l'utilisation des hydrates de carbone et des protéines. A partir du 15^e jour de l'incubation l'embryon utilise surtout les graisses du jaune d'œuf : ovolécithine, acides gras (renseignements trouvés dans *Chemical Embryology* de Needham, 1930). Or, nous savons, depuis les travaux de Bergenhem et Fahraeus (1936), que chez les Mammifères le sang contient une lécithinase qui dédouble la lécithine en acide oléique et en lysolécithine. Cette dernière substance constitue un facteur déterminant capital de l'hémolyse physiologique spontanée. Il est dès lors possible de formuler l'hypothèse d'un mécanisme semblable déclenché chez l'embryon du poulet à partir du 15^e jour d'incubation à la suite de l'utilisation prépondérante de l'ovolécithine du jaune d'œuf. Toutes les modifications physico-chimiques qui s'opèrent autour du phénomène de l'éclosion devront être envisagées, et des expériences seront entreprises dans ce sens dès le retour à des circonstances plus favorables.

6. — Conclusions.

Voici les conclusions qui découlent de mes observations :

1° La sensibilité de l'embryon de poulet varie suivant l'espèce de trypanosome, et sans doute aussi suivant la souche. Les deux souches de *Trypanosoma evansi* utilisées dans mes expériences se sont montrées très virulentes.

2° Même avec des trypanosomes très pathogènes pour l'embryon de poulet, tels que *Trypanosoma brucei* et *evansi*, l'infection ne réussit pas avec la régularité que nous connaissons chez les mammifères sensibles.

3° L'embryon de poulet est surtout sensible entre les 8° et 14° jours d'incubation. Après le 16° jour, l'infection ne semble plus réussir.

4° Les trypanosomes apparaissent dans le sang de l'embryon le 4° jour qui suit l'inoculation, la septicémie croît jusqu'au 7° jour et la mort survient généralement le 8° ou 9° jour.

5° Dans certains cas les embryons inoculés au dixième jour d'incubation éclosent apparemment indemnes. Il semble qu'il se soit agi dans ces cas d'infections différées et moins aiguës.

6° A trois reprises j'ai pu observer au cours d'infections différées, l'éclosion d'un poussin présentant un grand nombre de trypanosomes dans le sang.

7° Alors que l'infection de l'embryon de poulet est le plus souvent mortelle, celle qui se prolongea chez les trois poussins fut rapidement enrayée.

8° Le sérum de poule normale possède un pouvoir trypanocide *in vitro* vis-à-vis de *Trypanosoma evansi*. Il semble que le plasma d'embryon de poulet ait un pouvoir trypanocide très réduit, voire nul. L'analogie est frappante avec le fait bien connu de l'action trypanocide du sérum humain d'adulte et de l'absence de cette action dans le sérum de nouveau-né.

9° La modification dans la résistance à l'infection trypanosomique qui sépare l'animal jeune et l'animal adulte (sensibilité du rat vis-à-vis de *Trypanosoma lewisi* par exemple) et

qui s'interprète dans le cadre de l'immunité d'âge suivant les conceptions de Taliaferro par l'action d'anticorps trypanolytiques et ablastiques, se situe plutôt entre l'embryon de poulet et le poussin éclos qu'entre le poussin et la poule adulte.

10° Le renversement de la sensibilité à certains Trypanosomes qui se situe au voisinage de l'éclosion pourra peut-être un jour être rattaché à des facteurs physico-chimiques précis. Des modifications profondes du métabolisme général apparaissent peu avant l'éclosion et au moment de celle-ci. L'étude de ces modifications sera entreprise en des circonstances plus favorables à ces recherches.

*Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold,
Anvers.*

Samenvatting. — Het kippenembryo is gevoelig aan Trypanosoma evansi na inenting op de chorio-allantoïde membraan tusschen 8ⁿ et 14ⁿ dag der broeitijd. Het sterft gewoonlijk 8 of 9 dagen na de inenting. In vitro heeft het kippenembryoplasma geen of geringe werking op Trypanosoma evansi. Integendeel weerstaan de kipjes en de volwassen hoenders aan de trypanosomen. Ook *in vitro* oefent het normaal hoenderserum een duidelijke trypanocide werking tegenover Trypanosoma evansi.

Het uitkomen van een kipje met talrijke trypanosomen in het bloed werd driemaal bestatigd. Dit leverde een uitstekend materiaal tot de studie van het mechanisme waarop de weerstand tegenover de trypanosomosis rust. Door het ingrijpen van trypanolytische en ablastische antistoffen kan dit mechanisme wel uitgelegd worden volgens de klassieke opvattingen der immuniteitsleer en meer in 't bijzonder van de zoogenaamde ouderdomsimmunitieit. De tusschenkomst van physico-chemische factors moet nochtans ook ingezien worden. De belangrijke veranderingen welke zich in het algemeen metabolisme voordoen, kort vóór het uitkomen van het kipje, zullen later bestudeerd worden.

BIBLIOGRAPHIE.

- Adams, P. — 1928 — Ueber das Wesen der Trypanoziden Wirkung menschlichen Normalserum. *Ztschr. f. Immunitatsto*, 58, 459.
- Baumgartner, L. — 1934 — The relationship of age to immunological reactions. *Yale Jl Biol. e Med.*, 6, 403-434.
- Bergenheim, B. et Fahraeus, R. — 1936 — Ueber spontane Hamolysinbildungen im Blut, unter besonderer Berücksichtigung der Physiologie der Miltz. *Zeitschr. f. ges. Exper. Med.*, t. 97, p. 555.
- Bessemans, A. et de Meirman, E. — 1938 — Tentatives de culture de *Trepomena pallidum* sur la membrane chorio-allantoïde de l'embryon de poulet vivant. *C. R. Soc. Biol.*, t. 127, p. 847.
- Biocca, E. — 1938 — Studi sull'infezione sperimentale di embrioni di pollo et di polli adulti con *Trypanosoma brucei*. *Annali di Igiene*, Anno XLVIII, n^{os} 9-10, pp. 532-547.
- Borrel et Levaditi — 1907 — cité par Chabaud, A. en 1939 (1).
- Burnet, F. M. — 1936 — The use of the developing Egg in Virus. *Research Med. Res. Council*, n^o 220.
- Burnet, F. M. — 1938 — The growth of Viruses on the chorio-allantois of the chick embryo. *Handbuch der Virusforschungen*, Doerr and C. Hallauer.
- Bruynoghe, R. et Jadin, J. — 1936 — Culture du virus typhique murin sur la membrane chorio-allantoïde de l'embryon de poulet. *C. R. Soc. Biol.*, t. 121, p. 153.
- Cardonna. — 1937 — *La Nuova Veter.*, t. XV, cité par Roubaud, F. et Provost, E. en 1939.
- Chabaud, A. — 1939 — Infection de l'embryon de poule par *Spirochaeta duttoni* et *Spirochaeta ictero-hemorragiae*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. 32, pp. 483-485.
- Chabaud, A. — 1939 — Infection de l'embryon de poule par quelques Trypanosomes pathogènes. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. 32, n^o 5, pp. 489-492.
- Coventry, F. A. — 1925 — The reaction product which inhibits the reproduction of the trypanosomes in infections with *Tryp. lewisi*, with reference to its change in titer throughout the course of infection. *Amer. Jl Hyg.*, 5, 127-144.
- Culbertson, J. T. — 1938 — Natural transmission of immunity against *Tryp. lewisi* from mother rats to their offspring. *Jl Paras.*, 24, 65-82.
- Culbertson, J. T. — 1939 — The immunisation of rats of different age groups against *Trypanosoma lewisi* by the administration of specific antiserum per os. *Jl Paras.*, 25.
- Culbertson, J. T. — 1939 — Phagocytosis of Trypanblue in rats of different age groups. *Arch. Path.*, 27, 212-217.
- Culbertson, J. T. — 1939 — Studies on age resistance against Trypanosome infection IV. The activity of Germanine (Bayer 205) upon *Trypanosoma*

- equiperdum infection in rats of different age groups. *Ann. JI Hyg.*, 29, pp. 73-77, Sect. C.
- Culbertson, J. T. et Kolodny, M. H. — 1938 — Acquired immunity in rats against *Trypanosoma cruzi*. *Jl Paras.*, 24, pp. 83-90.
- Culbertson, J. T. et Kessler, W. R. — 1939 — Studies on age resistance against trypanosome infection : III. Vaccination of rats against *Trypanosoma lewisi*, with special reference to the response of different age groups. *Amer. JI Hyg.*, 29 (Sect. C), pp. 33-43.
- Culbertson, J. T. et Wotton, R. M. — 1939 — Studies on age resistance against trypanosome infections : VI. Production of ablastin in rats of different age groups after infection with *Trypanosoma lewisi*. *Amer. JI Hyg.*, t. 30, p. 101. Sect. C.
- Dingle, J. H., Mayer, R. K. et Gustus, E. L. — 1936 — Effect of gonadotropic and oestrogenic hormones on agglutinin responses to *B. pertussis* in immature animals. *Jl Immunol.*, 30, pp. 139-147.
- Dubois, A. — 1940 — Inoculation du Sodoku à la poule et à l'embryon de poule. *Bull. Soc. Belge Biol.*, t. 133, pp. 100-102.
- Duca, C. J. — 1939 — Studies on age resistance against trypanosome infections. II. The resistance of rats of different age groups to *Trypanosoma lewisi* and the blood response of rats infected with this parasite. *Amer. JI Hyg.*, 29 (Sect. C), 25-29.
- Durham, H. E. — 1908 — Notes on Nagana and on some Haematozoa observed during my travels. *Parasitology*, t. 1, p. 227.
- Elmendorf, J. E. et H. H. Smith — 1937 — Multiplication of the Yellow Fever Virus in the developing Chick embryo. *Amer. JI Path.*, 36, 171.
- Freund, J. — 1930 — Influence of age upon antibody formation. *Jl Immunol.*, 18, pp. 315-324.
- Goebel, O. — 1906 — Le Nagana chez la poule. *C. R. Soc. Biol.*, t. 61, p. 21.
- Goebel, O. — 1908 — Le Nagana chez la poule. *Arch. F. Schiffs u. Trop. Hyg.*, vol. 12, p. 511.
- Goodpasture E. W., Woodruff, A. M. et Budding, G. I. — 1932 — Vaccinal infection of the Chorioallantoic Membrane of the Chick embryo. *Amer. JI Path.*, 8, 271.
- Hallauer, C. and Kuhn, H. — 1940 — Ueber die dauerzuchtung von Nagana *Trypanosoma* und Ruckfallfieberspirochaeten in befruchteten hünenei. *Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskr.*, t. 222, pp. 406-411.
- Hogue, M. I. — 1939 — Infections of « *Trichomonas foetus* » in chick embryos and young chicks. *Amer. JI Hyg.*, t. 30, pp. 65-67.
- Kolodny, M. H. — 1939 — Seasonal variation in the intensity of experimental infection with *Trypanosoma cruzi* in young rats. *Amer. JI Hyg.*, t. 29 (Sect. C), pp. 131-132.
- Kolodny, M. H. — 1939 — Studies on age resistance against trypanosome infections : I. The resistance of rats of different ages to infections with *Trypanosoma cruzi*. *Amer. JI Hyg.*, t. 29 (Sect. C), pp. 13-24.

- Kolodny, M. H. — 1939 — The transmission of immunity in experimental trypanosomiasis (*Tryp. cruzi*) from mother rats to their offspring. *Amer. Jl of Hyg.*, t. 30, n° 1, pp. 19-39.
- Kolodny, M. H. — 1939 — Studies on age resistance against trypanosome infections : V. The influence of the age of the rats upon experimental infection with *Trypanosoma cruzi* per os. *Amer. Jl of Hyg.*, vol. 29 (Sect. C), pp. 155-161.
- Kolodny, M. H. — 1940 — Studies on age resistance against trypanosome infections : VII. The influence of age upon the immunological responses of rats to infection with *Trypanosoma cruzi*. *Amer. Jl of Hyg.*, vol. 31, n° 1 (Sect. C), pp. 1-8.
- Kujumgieff, I. — 1937 — *Giorn. Batt. e Immun.*, t. XIX, p. 383, cité par Roubaud, A. et Provost, A. en 1939.
- Laveran, A. — 1902 — De l'action du sérum humain sur le trypanosome du Nagana, *Tr. brucei*. *C. R. Acad. Sci.*, 134, p. 735.
- Laveran, A. — 1903 — De l'action du sérum humain sur les trypanosomes du Nagana, du Caderas et du Surra. *C. R. Acad. Sci.*, 137, p. 15.
- Laveran, A. — 1904 — Action du sérum humain sur quelques trypanosomes pathogènes, action de l'acide arsénieux sur *Tr. gambiense*. *C. R. Acad. Sci.*, vol. 138, p. 450.
- Laveran, A. — 1904 — Immunité naturelle des Cynocéphales pour les trypanosomes; activité de leur sérum sur les trypanosomes. *C. R. Acad. Sci.*, vol. 139, p. 177.
- Laveran, A. — 1915 — Au sujet d'un *Trypanosoma gambiense* qui conservé depuis 12 ans chez des animaux est resté résistant au sérum humain. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. 8, p. 442.
- Laveran, A. et Mesnil, F. — 1904 — *Trypanosomes et Trypanosomiasés* (1^{re} éd.). Masson et C^o, Paris.
- Laveran, A. et Mesnil, F. — 1907 — *Trypanosomes and Trypanosomiasés*. London, Ballière, Tindall et Cox.
- Laveran, A. et Mesnil, F. — 1912 — *Trypanosomes et Trypanosomiasés* (2^e éd.). Masson et C^o, Paris.
- Levine, N. D. b, Bradley, C. A. et Graham, R. — 1939 — The cultivation of *Trichomonas foetus* in developing chicken eggs. *Science*, t. 89, pp. 161-162.
- Longley, B. I., Clausen, N. M., Tatum, A. L. — 1939 — Cultivation of various species of Trypanosomes in Chick embryos. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, t. 41, p. 365.
- Mesnil, F. et Blanchard, M. — 1912 — Infections des poules dues aux *Tryp. gambiense* et *Tryp. rhodesiense*. *C. R. Soc. Biol.*, t. 72, p. 938.
- Mesnil, F. et Lebœuf, A. — 1910 — De l'action comparée des sérums de Primates sur les infections à trypanosomes. *C. R. Soc. Biol.*, t. 69, p. 382.
- Mesnil, F. et Martin, G. — 1906 — Sur la réceptivité des Oiseaux aux trypanosomes pathogènes pour les mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, t. 60, p. 739.
- Mesnil, F. et Ringenbach, J. — 1911 — De l'action des sérums de Primates sur le trypanosome humain d'Afrique. *C. R. Acad. Sci.*, t. 155, p. 78.

- Mesnil, F., Léger, M. et Pérard, Ch. — 1936 — Essais divers d'infection des poules par des trypanosomes pathogènes de Mammifères. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. 29, p. 679.
- Mitchell, Ch. A., Walker, R. V. L., Heath, L. M. et McKercher, D. G. — 1939 — Preliminary note on the growth of *Trypanosoma equiperdum* in the developing chick embryo. *Canadian Jl Compar. Med.*, t. 3, n° 8, p. 223.
- Murphy, J. B. et Rous, P. — 1912 — The behavior of Chicken Sarcome Implanted in the developing Egg. *Jl Exper. Med. Am.*, t. 15, 119.
- Mussa, B. et Virando, A. — 1933 — Difese immunitarie ed eta. *Giorn. di Batt. e Immunol.*, vol. 10, pp. 1057-1160.
- Nattan-Larrier, L. et Lépine, P. — 1927 — Etude comparative de l'action sur les Trypanosomes du sérum de la mère et de celui de l'enfant nouveau-né. *C. R. Soc. Biol.*, t. 97, p. 1470.
- Needham, J. — 1931 — *Chemical embryology*, vol. 11. Cambridge Univ. Press.
- Nelson, P. M. — 1938 — Cultivation of *Trichomonas foetus* in the chick embryo. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, vol. 39, p. 258.
- Neumark, E. et Pogorschelsky, H. — 1925 — Das vorkommen trypanocider Substanzen bei Säuglingen. *Klin. Woch.*, 4 ii, p. 1724.
- Neumark, E. et Pogorschelsky, H. — 1925 — Die bedeutung des trypanociden wirkung des Blutserums von Säuglingen. *Zeitschr. f. Kinderheilk.*, vol. 40, p. 535.
- Rosenthal, F. — 1929 — Weitere Untersuchungen über den trypanociden Heilmechanismus des menschlichen Serums : VI. Mitteilung. Verteilung, Umwandlung und Untergang der trypanozidogenen Substanzen des menschlichen serums im Türkörper. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, t. 62, p. 454.
- Rosenthal, F. et Freund, R. — 1923 — III. Ueber den Mechanismus des trypanocidieschnunden bei Leberkranken. *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr.*, t. 97, p. 137.
- Rosenthal, F. et Freund, R. — 1923 — IV. Weitere Untersuchungen über die trypanoziden substanzen des Menschlichen serums. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, t. 37, p. 48.
- Rosenthal, F. et Kleemann, E. — 1915 — Ueber die Einwirkung von Mütterlichen und fötalen Menschenserum auf Trypanosomen. *Berlin Klin. Woch.*, t. 52, p. 75.
- Rosenthal, F. et Spitner, Fr. — 1924 — Weitere Untersuchungen über die trypanoziden Substanzen des menschlichen Serums : V. Mitteilung. Die Bedeutung des Reticuloendothels für den Mechanismus der trypanoziden Wirkung des Menschenserums. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, vol. 40, p. 529.
- Roubaud, E. et Provost, A. — 1939 — Infection inapparent de la poule par *Trypanosoma rhodesienne*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. 32, n° 8, p. 807.
- Roubaud, E. et Provost, A. — 1940 — Infection inapparente de la poule par *Trypanosoma rhodesiense* (deuxième note). *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. 38, nos 6-10, p. 410.
- Roubaud, E. et Romana, I. — 1939 — Infections de l'embryon de poule par *Schizotrypanum cruzi*. *Bull. Soc. Path. Exot.*

- Schilling, A. — 1904 — Ueber die Tsetsekrankheit oder Nagana. *Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, t. 21, p. 476.
- Schulz, M. — 1934 — The influence of sexual maturity upon the reactivity of rabbits to horse serum. *Jl Exper. Med.*, t. 60, pp. 339-350.
- Taliaferro, W. H. — 1924 — A reaction product in infections with *Trypanosoma lewisi* which inhibits the reproduction of the Trypanosomes. *Jl Exp. Med.*, vol. 39, pp. 171-190.
- Taliaferro, W. H. — 1930 — *Immunology of Parasitic Infections*. London.
- Taliaferro, W. H. — 1932 — Trypanocidal and reproduction-inhibiting antibodies to *Trypanosoma lewisi* in rats and rabbits. *Amer. Jl Hyg.*, t. 16, pp. 32-84.
- van den Berghe, L. — 1939 — Sur une souche de *Trypanosoma evansi* isolée d'un orang outang de Sumatra. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. 32, n° 6, pp. 654-660.
- van den Berghe, L. — 1941 — Trypanosomose d'un poussin éclos après inoculation chorio-allantoïdienne de *Trypanosoma evansi*. *Acta biologica belgica*, t. 1, p. 146.
- Weil, E. — 1905 — Essais de culture des bacilles lépreux. *Annales Pasteur*, t. 19, p. 793.
- Woodruff, A. M. et Goodpasture, E. W. — 1931 — The susceptibility of the Chorio allantoic Membrane of Chick embryo to infection with Fowl pox virus. *Amer. Jl Path.*, 7, 209.
- Yorke, W., Adams, A. R. D. et Murgatroyd, F. — 1930 — Studies in Chemotherapy : II. Action in vitro of normal human serum on the pathogenic trypanosomes. *Ann. Trop. Med. Paras.*, vol. 24, n° 1, p. 115.
- Zinsser et Bayne-Jones. — 1935 — *Textbook of Bacteriology* (7th edition). D. Appleton-Century Comp. New-York, London.
-

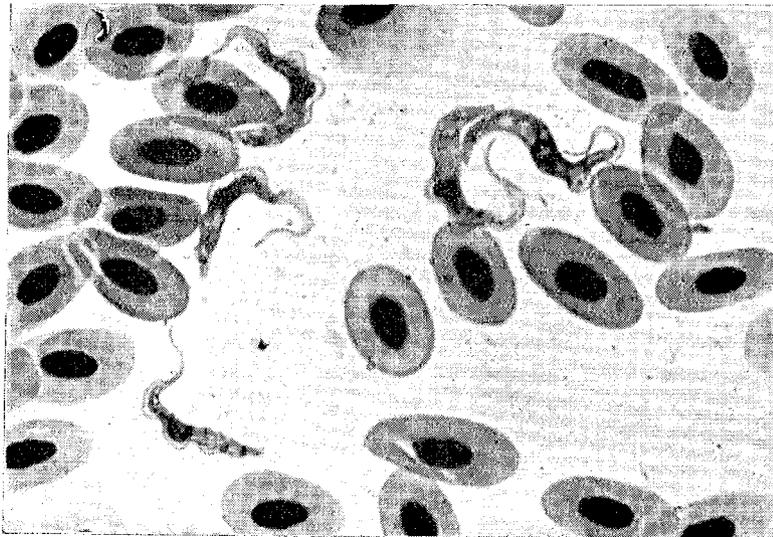


Fig. 1.
Trypanosoma evansi dans le sang du poussin n° 1.

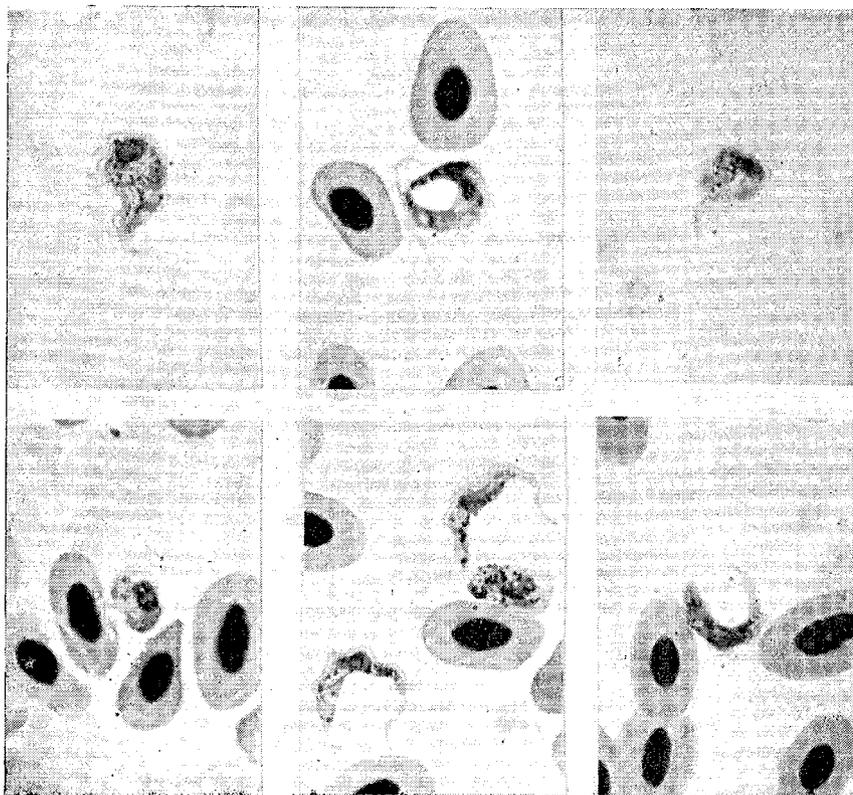


Fig. 2.
Trypanosomes d'involution et corps trypanolytiques cinq jours après l'éclosion
du poussin n° 1. (Photo M. Chardome \times 1400.)