

Essais d'infection de la cavité générale de la tique *Ornithodoros moubata* par divers trypanosomes

PAR

J. RODHAIN.

Nous exposons dans cette étude les résultats d'une série d'essais que nous poursuivons depuis près de deux ans en vue d'adapter des trypanosomes à la cavité générale de la tique *Ornithodoros moubata*.

L'idée d'entreprendre ces expériences nous est venue à la suite de la constatation que nous avons faite de l'apparition dans le liquide coelomique de formes métacycliques et autres du *Trypanosoma vespertilionis* pullulant dans le tractus intestinal de la tique (1).

Il nous faut rappeler avant de relater les résultats de nos essais, que E. Brumpt (2) a réussi à transmettre *T. hyalomae* (Farell) parasite naturel de la cavité générale de *Hyalomae aegyptii* à une série d'autres ixodidés et que ses tentatives chez diverses espèces d'argasidés notamment chez *Ornithodoros moutaba* n'ont pas abouti à des infections durables.

*
**

I. — *Inoculation intracoelomique de cultures de Trypanosoma vespertilionis et Trypanosoma pipistrelli.*

Dans une première série d'expériences faites en collaboration avec G. Boné, nos essais ont porté sur *T. vespertilionis* et *T. pipistrelli*, deux trypanosomes communs des chauves-souris et qui tous deux trouvent dans le tractus intestinal de la tique

des cases, un milieu favorable pour leur développement (3). Au cours de nos essais nous nous sommes constamment servis de cultures de trypanosomes sur milieu NNN ou sur bouillon au sang de lapin. Pour infecter nos tiques nous avons eu recours à deux techniques différentes. L'une a consisté à introduire au moyen d'une fine micropipette une ou deux gouttelettes de culture riche, directement dans le liquide coelomique, par l'ouverture de la section d'une patte de la tique. Le nombre de flagellés inoculés par cette voie est forcément peu élevé; ce d'autant plus que l'injection terminée, lorsqu'on retire la micropipette, il reflue toujours un peu de liquide coelomique entraînant aussi toujours une partie des flagellates introduits. Elle offre l'avantage de respecter le sac intestinal, les parasites ne pénètrent que dans la cavité générale de l'acarien.

La deuxième technique, plus facile, mais aussi beaucoup plus brutale introduit le liquide de culture à travers la cuticule percée par une micropipette. Celle-ci blesse fatalement le sac intestinal et les parasites se répandent à la fois dans celui-ci et dans la cavité générale.

1. — Essais faits avec *Trypanosoma vespertilionis*.

1) Dans une première série d'expériences comportant trois essais, 38 *Ornithodoros moutaba* furent inoculés par la technique de la patte sectionnée; 11 tiques s'infectèrent. Chez neuf l'infection fut très passagère; une resta parasitée 1 mois et 12 jours, enfin, une seule conservait les trypanosomes dans sa cavité générale durant 3 mois et 20 jours lorsqu'elle fut sacrifiée. L'infection était restée exclusivement coelomique. L'intestin était indemne de parasites.

2) La seule expérience faite en inoculant les tiques à travers la cuticule porta sur 12 ornithodoros dont 7 adultes et 5 grandes nymphes.

Les résultats obtenus peuvent se résumer comme suit: une seule des nymphes présenta des parasites dans le liquide coelomique au 27^e jour, après l'inoculation; chez toutes le sac intestinal fut infecté.

Quant aux tiques adultes, toutes ont montré des flagellés

dans la cavité générale, l'infection s'accompagnant d'une réaction cellulaire caractéristique sur laquelle nous insisterons plus loin. L'infection chez certaines tiques fut intense, mais ne resta point durable, les parasites disparurent progressivement du liquide coelomique à partir du 33^e jour après l'inoculation, l'infection intestinale persistant.

Pour l'ensemble de ces essais, concernant *T. vespertilionis* nous devons constater que si l'infection paraît facile à obtenir, elle ne s'est montrée qu'exceptionnellement durable, sa plus longue persistance étant de 3 mois 20 jours.

2. — Essais faits avec *Trypanosoma pipistrelli*.

1) La première série d'expériences par le procédé d'inoculation par la patte sectionnée comporte 3 essais.

Le premier au cours duquel 11 tiques furent employées fournit un résultat entièrement négatif; le deuxième qui comprit 15 ornithodoros amena une infection passagère chez 3 tiques, dont une seule resta parasitée pendant 9 jours. Au cours du 3^e essai, de 10 ornithodoros inoculés, 7 montrèrent des flagellés dans le liquide coelomique; un mois après la date d'inoculation, tous s'étaient débarrassés de leurs parasites.

Dans l'ensemble de ces essais ayant porté sur 36 tiques, un résultat très peu durable fut observé chez 10 ornithodoros seulement. Toutes les infections restèrent discrètes, les parasites rencontrés furent rares, et la réaction cellulaire du liquide coelomique fut faible.

2) Une seule expérience commencée le 17-10-42 fut réalisée en injectant les tiques à travers la cuticule. Elle fournit des résultats intéressants. Treize tiques furent inoculées. Huit montrèrent une infection coelomique d'intensité variable accompagnée de réaction cellulaire caractéristique. Chez trois ornithodoros, l'infection générale persista pendant 3 mois 1 jour. Une seule tique parasitée survit au 18-1-43.

Chez toutes les tiques qui au cours de l'expérience furent sacrifiées parce que en mauvais état et incapables de se nourrir encore, l'infection intestinale fut vérifiée et trouvée positive. Pour l'ensemble de ces essais concernant *Trypanosoma vesper-*

tilionis nous constatons donc que l'infection par la voie coelomique directe, n'employant que peu de parasites n'aboutit qu'à la persistance très peu durable de ces derniers dans la cavité générale. Au contraire, l'introduction dans celle-ci d'un plus grand nombre de trypanosomes, avec lésion concomitante de l'intestin, aboutit à une infection plus intense et plus durable.

3) Constatant la persistance de l'infection générale chez certains acariens de la dernière expérience, nous avons voulu éprouver s'il ne serait pas possible de faire un passage de cette infection au moyen de parasites puisés dans le liquide coelomique même.

Deux essais différents furent réalisés; l'un par le procédé de la patte sectionnée, l'autre par celui de l'injection à travers la cuticule. Deux petites gouttelettes de liquide coelomique obtenues par la section de deux pattes chez des ornithodores infectés furent inoculés à 4 tiques neuves. Deux tiques furent injectées par chacun des procédés.

Le résultat fut uniformément négatif. Il ne semble donc pas que les trypanosomes qui s'étaient maintenus pendant plusieurs semaines dans le liquide coelomique, se soient réellement adaptés à ce parasitisme.

Nous devons conclure la première partie de cette note en constatant que nos essais en vue d'obtenir une infection générale durable et transmissible de l'*Ornithodoros moubata* par les *T. vespertilionis* et *T. pipistrelli* ont échoué.

*
**

Les infections temporaires que nous avons observées ne sont pourtant pas le résultat de la simple survivance des trypanosomes dans le liquide coelomique. Elles correspondent à une réelle multiplication des flagellés et celle-ci est intra et extra-cellulaire. Elle s'accompagne d'une réaction cytologique caractéristique du liquide que nous décrivons ici dans ses grandes lignes.

Le liquide sanguin normal des ornithodores est peu riche en cellules, qui sont de deux types, ne représentant d'après nous que deux stades différents du même élément cellulaire qui est

doué d'amoeboïsme et d'un haut pouvoir phagocytaire. La forme dominante représente de grandes cellules dont le noyau n'est pas visible à frais et le protoplasme bourré d'enclaves arrondies réfringentes à l'observation, ces éléments poussent des pseudopodes hyalins souvent fins et digités.

A côté de ces éléments se rencontrent de rares cellules plus petites, dont le protoplasme est très finement granuleux, souvent sans vacuole et ne renfermant pas d'enclaves. Entre les deux formes se voient les stades intermédiaires, avec des enclaves en nombre et volume différents.

La coloration au Romanowsky fait apparaître les premiers éléments avec un noyau arrondi ou ovalaire riche en chromatine, couvert par les enclaves teintées en rouge violet pourpre. Les petites cellules ont un protoplasme basophile, un noyau souvent excentrique, certaines rappelant l'aspect des plasmocytes. Chez les formes intermédiaires la réaction basophile du protoplasme s'atténue, il apparaît des vacuoles, et des enclaves, qui d'abord petites grossissent en volume et en nombre.

A la suite de l'introduction dans la cavité générale de cultures de l'un ou l'autre des trypanosomes de chauve-souris, il se déclenche une réaction caractérisée d'abord par l'augmentation des petites cellules non vacuolisées sans enclaves, puis par l'apparition de cellules à très grandes vacuoles dépourvues d'enclaves ou n'en renfermant qu'un petit nombre.

Les trypanosomides rarement nombreux dans le liquide sont extra- et intracellulaires. Les parasites dans les cellules sont mobiles dans de grandes vacuoles claires. Fréquemment la cellule parasitée ne présente qu'une vacuole unique qui occupe tout le protoplasme qui est réduit à un mince liseré périphérique. Le noyau refoulé à la périphérie forme comme le chaton d'une bague.

La plupart des parasites aussi bien endo- qu'extracellulaires sont du type crithidia, certains pourtant ont leur protoplasme en arrière du noyau et nous avons rencontré des trypanosomes du type métacyclique de *T. vespertilionis* comme aussi des formes étroites allongées du type *T. pipistrelli*.

Les cellules parasitées montrent rarement quelque enclave et

l'observation des trypanosomides dans les vacuoles claires est très aisée. Ils sont activement mobiles et leur nombre dans une même cellule est variable. Le maximum observé a été de 9 parmi lesquels se remarquait encore une forme en division.

L'observation de formes en division binaire incluses dans les vacuoles permet d'affirmer qu'il ne s'agit certainement pas ici d'un simple phénomène de phagocytose mais d'une réelle multiplication intra-cellulaire.

Cette multiplication apparaît d'ailleurs comme ralentie. Nous avons pu nous en convaincre par l'examen de préparations lutées dans lesquelles les cellules et les parasites sont restés vivants pendant plus de 48 heures.

La multiplication intracellulaire elle-même des flagellés n'est d'ailleurs jamais active, surtout chez les tiques dont le sac intestinal est resté intact. Lorsque ce sac est lésé par l'infection à travers la cuticule elle peut être plus intense, telle que nous l'avons rencontrée chez certaines tiques infectées par *Trypanosoma pipistrelli*.

Lorsque l'infection diminue, la réaction cellulaire s'atténue; avec la disparition des parasites, les petites cellules réactionnelles, sans enclaves et les grands éléments vacuolés deviennent rares. Peu à peu l'image sanguine redevient normale, les cellules à protoplasme chargé d'enclaves arrondies réfringentes dominant.

Nous avons voulu nous assurer que la réaction cellulaire si caractéristique obtenue chez les tiques infectées était bien due au parasitisme et ne résultait pas de l'introduction du liquide de culture vecteur des trypanosomes.

D'une part nous avons injecté à des tiques neuves, du bouillon au sang comme tel, et de l'autre avons inoculé à des ornithodores à travers la cuticule du sang de rat riche en *Trypanosoma lewisi*.

Dans les deux cas le liquide coelomique ne montra pas de réaction appréciable. Les globules rouges du sang de lapin et du rat furent rapidement englobés par les grandes cellules à enclaves, et les *Trypanosoma lewisi* avaient disparu après 48 heures.

Les petits éléments jeunes n'augmentèrent guère en nombre et les grands éléments vacuolisés ne firent pas leur apparition.

Les résultats obtenus au cours de cette première série d'essais peuvent se résumer dans la conclusion suivante :

L'inoculation dans le liquide coelomique des *Ornithodoros moubata* de cultures de *Trypanosoma vespertilionis* ou *Trypanosoma pipistrelli*, ne provoque pas une infection générale durable. Les infections temporaires obtenues qui n'ont pas paru transmissibles, résultent d'une multiplication réelle, mais modérée tant extra- qu'intra cellulaire des Trypanosomides. Cette multiplication s'accompagne d'une réaction cytologique se traduisant par l'apparition d'éléments jeunes et de cellules à vacuoles claires caractéristiques.

II — Inoculations intracoelomiques de *Trypanosoma cruzi*.

Quoique négatifs dans leur ensemble, les résultats positifs partiels obtenus dans certaines des précédentes expériences nous incitèrent à continuer nos essais. Ceux-ci furent continués au moyen, cette fois, de cultures de *Trypanosoma cruzi*.

Ce trypanosome, type de parasite, bien adapté au tractus digestif des arthropodes, détermine dans le tube digestif de l'*Ornithodoros moubata* des infections durables dont certaines ont été poursuivies pendant plusieurs années.

Cependant ces *Ornithodoros* hébergeant les formes d'évolution métacycliques de *Trypanosoma cruzi* ne semblent pas transmettre l'infection au cours de leurs repas sanguins.

Nous avons employé au cours des essais, dont la relation va suivre, uniquement la méthode de l'inoculation à travers la cuticule. Les cultures inoculées provenaient de tubes gélose au sang NNN.

Au début nous avons inoculé à côté des *Ornithodoros moubata* un certain nombre d'*Argas reflexus*. Nous donnerons séparément les résultats obtenus chez les deux argasidés.

I. *Argas*.

Expérience I. — Le 4-VII-44, un lot de 9 *Argas reflexus* adultes reçoit à travers la cuticule une goutte de culture sur NNN âgée de 3 semaines. Les premiers examens du liquide coelomique se font le 7-VII. Le

liquide coelomique de 6 tiques examinées, montre chez toutes une réaction cellulaire d'intensité variable et la persistance de trypanosomes rares, les uns extra-, les autres intracellulaires.

Des 3 argas restant examinés le 11-VII, deux étaient positifs, un seul négatif.

Le 18-VII, cinq argas examinés pour la seconde fois sont tous positifs, mais avec de rares formes mobiles dans le liquide coelomique.

Le 1-VIII, il reste 7 argas vivants dont un seul est trouvé positif.

Les tiques refusent de se nourrir et le 16-VIII il n'en survit plus que 3. Aucune d'elles ne montre des flagellés dans le liquide coelomique.

Le même résultat est obtenu le 11-IX et nous considérons l'essai terminé.

L'infection coelomique constatée, très faible et très passagère, n'autorisait guère d'espoir de succès. Cependant nous avons voulu répéter l'essai avant de conclure.

Expérience II, du 7-VII-44. La culture qui servit à l'inoculation d'un lot de 6 argas adultes, était âgée de 10 jours et très riche. Elle fut employée le même jour pour l'inoculation d'un lot d'*ornithodoros*, essai qui sera rapporté plus loin.

Au premier examen après 4 jours, le 11-VII, le liquide coelomique de deux des 6 argas montre des trypanosomes rares.

Le 18-VII, une seule tique s'est nourrie et fournit une gouttelette de liquide coelomique, avec réaction cellulaire intense; cellules non vacuolisées et présence de rares flagellés intracellulaires.

Un des argas très plat est disséqué et montre la persistance de l'infection intestinale.

Le 22-VII il reste trois tiques qui toutes sont négatives. La conclusion qui se dégage de ces deux essais c'est que la survivance des formes de culture sur NNN de *Trypanosoma cruzi* inoculées dans le liquide coelomique de 15 argas *reflexus*, n'excédera pas 26 jours.

Les parasites présents restèrent rares. La réaction cellulaire qui accompagne la présence des flagellés dans le liquide coelomique ne détermine pas l'apparition de cellules à grandes vacuoles sphériques claires; les parasites intracellulaires sont inclus dans de grandes cellules à nombreuses enclaves réfringentes où ils sont difficilement visibles. L'infection intestinale perdure alors que l'infection intracoelomique a disparu. A la suite de ces résultats les essais avec *Argas reflexus* furent abandonnés.

II. Expériences avec *Ornithodoros moubata*.

1. Le 4-VII-44. Un lot de 8 tiques adultes est inoculé au moyen de culture âgée de 3 semaines.

Le premier examen fait 3 jours après le 7-VII, montre la présence de flagellés dans le liquide coelomique d'une seule sur 6 tiques. Les 2 tiques

restantes sont examinées le 11-VII, l'une d'elles est parasitée. Les ornithodoros qui ont eu tous une patte sectionnée, se nourrissent le 12-VII et sont réexaminés le 18-VII. Il reste 7 tiques. Le liquide coelomique de deux est trouvé positif. Ces tiques sont marquées. Un nouvel examen fait le 1-VIII amène le même résultat. Le 16-VIII aucun résultat positif n'est obtenu mais le 11-IX, soit 68 jours après le début de l'expérience, le liquide coelomique d'une des tiques, positive le 18-VII, montre encore des flagellés et une réaction cellulaire avec présence de cellules à grandes vacuoles dont l'une avec formes crithidiennes bien mobiles.

II. Le 7-VII-44 un lot de 16 ornithodoros est inoculé à travers la cuticule avec une culture riche âgée de 10 jours. Six tiques sont examinées le 11-VII; deux montrent des flagellés dans le liquide coelomique. Quatre autres sont examinées le 18-VII dont 3 sont positives dans le liquide coelomique. Toutes montrent une réaction cellulaire avec présence de cellules à grandes vacuoles.

Le 22-VII examen de deux nouvelles tiques dont le résultat est comme suit :

ornithodoros 1 : liquide coelomique 1 gouttelette : cellules à grandes vacuoles assez nombreuses. Rapidement rencontré plusieurs vacuoles parasitées.

ornithodoros 2 : liquide coelomique — cellules à grandes vacuoles moins nombreuses et moins de trypanosomes. Vu une forme crithidienne libre.

Les deux tiques sont marquées rouge sur le dos avec une gouttelette de fuchsine.

Le 1-VIII. L'examen de 5 ornithodoros fournit deux résultats positifs : les 2 tiques à liquide coelomique parasité sont marquées bleu. Le protocole de leur examen est le suivant :

Tique 3. Réaction cellulaire caractéristique : presque toutes les cellules portent de grandes vacuoles. Assez nombreuses cellules vacuolisées avec trypanosomes bien mobiles, jusque 6 dans une même vacuole. Certaines cellules sont réduites à une unique vacuole, le noyau refoulé à la périphérie se distingue à peine. Remarqué dans une vacuole une forme crithidienne en voie de division.

Tique 5. Réaction avec cellules vacuolisées, non rares; certains trypanosomes sont très étroits.

Le 11-VIII. Une des tiques marquées rouge a pondu un petit paquet d'œufs.

Une gouttelette de liquide coelomique montre qu'elle reste parasitée.

Le 18-VIII, les 16 ornithodoros sont nourris sur cobaye, nous observons celui-ci pour nous assurer qu'il reste indemne de *Tryps. cruzi*. Ce cobaye meurt le 18, non parasité.

Le 22-VIII nous recueillons par section d'une patte de chacune des 16 tiques quelques gouttelettes de liquide coelomique qui sont inoculées sous la peau d'un cobaye mi-adulte.

En même temps nous avons examiné une minuscule gouttelette de liquide coelomique de 10 des 16 ornithodoros avec résultat positif chez 6.

Le nombre des trypanosomes dans chaque cas est très peu élevé; néanmoins le cobaye inoculé est trouvé infecté le 18-IX. Les formes existant dans le liquide coelomique étaient donc douées de pouvoir infectant.

Le 14-X il reste 13 ornithodoros vivants. Nous examinons le liquide coelomique de 9 d'entre eux dont les 2 tiques marquées rouge trouvées positives le 22-VII. La réaction cellulaire de leur liquide coelomique n'est pas éteinte mais nous ne trouverons plus de parasites. Deux tiques sur les 9 ont encore des flagellés dans leur liquide coelomique.

Les 4 tiques restantes sont examinées le 30-X avec résultat uniformément négatif. Le résultat cellulaire d'une d'entre elles revêt un caractère tout particulier malgré l'absence de flagellés. Les cellules à larges vacuoles sont extrêmement nombreuses; quelques-unes contiennent dans la vacuole unique de petites granulations d'une teinte jaunâtre.

Les 2 tiques à liquide coelomique positif sont nourries sur cobaye le 3-XI-44, l'animal meurt malheureusement quelques jours plus tard.

Le 5-1-45, il survit encore 9 tiques, elles sont examinées ce jour ainsi que 10 jours après le 15-1, avec résultat uniformément négatif.

Nous retrouvons chez la tique à réaction cellulaire particulière la même image curieuse sur laquelle nous reviendrons autre part.

Des 8 autres ornithodoros examinés le 15-1, 4 montraient encore une réaction cellulaire sans parasites d'ailleurs.

Pour clore cette expérience nous examinons le liquide intestinal de 6 ornithodoros dont le liquide coelomique était indemne de flagellés et trouvons chez d'entre elles une infection type relevant du *Tryp. cruzi*.

Cette expérience nous avait appris que l'infection coelomique pouvait persister pendant 3 mois 7 jours et que les formes parasitaires présentes conservaient leur pouvoir pathogène.

III. — Dans le but de suivre le sort des cobayes sur lesquels se nourrissent les tiques à liquide coelomique parasité, nous instituons une nouvelle expérience.

Le 23-VIII-44 un lot de 15 ornithodoros mi-adultes est inoculé à travers la cuticule au moyen d'une culture de 13 jours. Cette culture est particulièrement riche en toutes formes.

Le 1-IX nous examinons 3 ornithodoros et le 11-IX 2 autres. Toutes les tiques ont leur liquide coelomique parasité. Ces ornithodoros se nourrissent sur un cobaye jeune qui reste indemne d'infection.

Le 30-X trois tiques sont trouvées mortes. Nous examinons au hasard 2 des survivantes, toutes deux sont positives. Les tiques sont nourries à nouveau le 9-XI sur cobaye neuf. Le liquide coxal excrété montre des formes flagellés mobiles à côté d'autres courtes fusiformes sans flagellé libre.

Un cobaye est inoculé d'une partie de ce liquide. Il est trouvé infecté de trypanosomes le 27-XI. Le cobaye sur lequel les tiques se sont nourries est lui trouvé parasité le 11-IX et meurt le 27-XII-44 d'une affection intercurrente.

Aucun nouvel examen des ornithodoros est pratiqué jusqu'au 5-1-45.

Il reste à cette date 10 tiques vivantes; 4 d'entre elles ont encore des parasites dans leur liquide coelomique. Chez 3 les flagellés étaient très rares, chez la 4^e au contraire existait une infection très intense.

A côté des formes intracellulaires se remarquaient de nombreux parasites libres d'aspects divers. Les cellules à grandes vacuoles avaient disparu comme si devant la pullulation intense des flagellés la réaction cellulaire avait été inhibée.

Une deuxième gouttelette de liquide, obtenue d'une patte du côté opposé à la première sectionnée, donne le même résultat.

Dans les 2 frottis colorés, nous trouvons à côté de parasites isolés libres des agglomérats sans trace cellulaire voisine; d'autres agglomérats proviennent manifestement de cellules éclatées dont on voit le noyau élargi par le frottis et les inclusions éosinophiles du protoplasme éparpillées tout autour. Ça et là se rencontre encore une cellule entière, avec les enclaves et les trypanosomes dont un certain nombre en division, à côté de formes sans flagelles dont les unes trapues ovalaires et les autres plus allongées.

Nous aurions voulu nourrir séparément cette tique sur un cobaye mais toutes nos tentatives de la faire se gorger échouèrent.

Son liquide coelomique fut réexaminé le 22-I; il montrait la même abondance de parasites que 15 jours avant. Au moyen d'une micropipette nous recueillons 2 gouttelettes du liquide et le diluons dans du Ringer.

Au moyen de cette dilution qui renferme 10 parasites par champ microscopique, nous inoculons à travers la cuticule 4 ornithodoros neufs. Aucun de ces ornithodoros ne montra ultérieurement des parasites dans son liquide coelomique; l'intestin de l'un d'eux était infecté de *Tryp. cruzi*.

Les plaques colorées du liquide montraient une culture de formes cithidia et trypanosomes. Certaines cellules du sang étaient vraiment bourrées de trypanosomides.

Le 29-I la tique est en mauvais état et nous décidons de tenter d'inoculer une trace de liquide coelomique toujours extrêmement riche en parasites à des tiques neuves en faisant l'inoculation par la patte sectionnée. Nous caressons l'espoir d'obtenir d'emblée des infections coelomiques intenses. Malheureusement la section des pattes ne fournit plus que de minuscules traces du liquide qui est toujours très riche en trypanosomes. Nous ne réussissons qu'une seule inoculation correcte. Elle reste sans suite.

D'autre part, une trace de liquide parasité inoculé à 2 souris infecta ces animaux, l'un après 7 jours, l'autre après 14 jours.

Fixée et enrobée, la tique fut débitée en coupes qui mirent en évidence une infection intestinale très discrète et localisée à quelques diverticules seulement, alors que le coelum était uniformément envahi par des flagellés: formes libres et formes intracellulaires.

L'observation des 3 tiques infectées restantes (Nos 3.6-9) fut poursuivie jusqu'au 30-VI. L'examen fait le 21-II montra que deux restaient parasitées; l'infection perdurait à cette date depuis 6 mois; le 5-V toutes étaient négatives. Elles furent nourries le 8-V sur souris, le liquide coxal excréte par l'une d'elles était encore positif.

Cette expérience a permis de confirmer le fait que les formes parasitaires du liquide coelomique ont conservé leur pathogénité.

Elle a montré aussi que les ornithodoros infectés de *Trypanosoma cruzi* au moyen d'une culture de *Trypanosoma cruzi* inoculé à travers leur cuticule sont capables de transmettre l'infection à l'animal sensible sur lequel ils se nourrissent.

Nous voyons d'autre part que chez certaines tiques l'infection coelomique peut persister pendant au moins 6 mois. Enfin chez une des tiques inoculées, l'infection coelomique s'est intensifiée au point de ressembler à une vraie culture, semblable à celle que l'on connaît chez les ixodidés parasités par *T. hyalomae*. Mais à côté de ces faits positifs il y a la constatation négative : qu'il fut impossible de réussir un passage au moyen des trypanosomes prélevés dans le liquide de la tique à infection généralisée.

Avant de tirer des conclusions de ces essais, il nous faut signaler que comme corollaire à l'expérience III nous avons fait nourrir sur les 2 souris infectées au moyen des trypanosomes coelomiques, un lot de 10 ornithodores. Ceux-ci ont fait uniquement des infections intestinales, sans aucune répercussion sur le liquide coelomique.

DISCUSSION.

Dans l'ensemble de ces essais, 38 ornithodores ont reçu une culture de *Trypanosoma cruzi* dans le liquide coelomique et dans leur tube intestinal. Plus de 50 % de ces tiques ont développé une réaction coelomique avec réaction cellulaire caractéristique, semblable à celle observée chez les argasidés inoculés avec les cultures des trypanosomes de chauve-souris. Dans le coelom les parasites sont presque tous intracellulaires inclus dans de grandes vacuoles sphériques, rappelant celles des cellules parasitées de l'intestin. Les flagellés inclus en nombre variable dans les vacuoles, sont la plupart du type crithidia et certains sont manifestement en division. L'infection reste en général très modérée et les tiques n'en paraissent pas spécialement incommodées. Elle semble bien aussi indépendante de celle concomit-

tante de l'intestin. En effet lorsque le liquide coelomique est correctement prélevé, il n'y a pas de trace de grains noirs qui sont l'indice d'une blessure des diverticules du sac digestif. La lésion produite dans celle-ci lors de l'inoculation se cicatrise vite et paraît bien ne plus s'ouvrir dans la suite.

La plus longue durée de la persistance des flagellés dans le liquide coelomique chez une seule tique fut de 6 mois. D'autres tiques ont conservé longtemps leur infection notamment : 1 pendant 67 jours ; 4 pendant 4 mois et 18 jours ; 1 pendant 5 mois et 20 jours. Il faut noter que les examens répétés peuvent avoir troublé l'évolution de l'infection, et nous ne considérons pas ces 6 mois comme une durée limite.

Chez un seul des ornithodores, un mâle, l'infection après 4 mois et 18 jours a pris un caractère aigu, l'envahissement de la cavité coelomique fut complet, avec de très nombreuses formes extra- et intracellulaires superposables à ce que nous avons vu sur une préparation de *Hyalomma aegyptium* parasité par *Crithidia hyalommae*. Nous devons cette préparation à l'obligeance du Professeur E. Brumpt et nous saisissons cette occasion pour remercier notre collègue et ami pour l'envoi de ce matériel ainsi que la souche de *Trypanosoma cruzi* qui nous a permis de faire cette étude. Il est aussi comparable à la culture qu'a obtenue C. A. Hoare (6) dans le coelum des chenilles de *Galleria mellonella* inoculées de *Trypanosoma cruzi*. Dans les essais du savant protozoologiste anglais, 100 pour 100 des chenilles ont montré ce développement intense. Nous avons pu examiner de très belles préparations au laboratoire même de C. A. Hoare.

Cette infection intense du coelum contrastant avec le développement presque exclusivement limité intracellulaire qui semble la règle, ne s'est manifesté que chez une seule tique sur 38. Il fut impossible de la reproduire par passage, mais peut-être aurions nous dû prélever plus de liquide. En voulant faire durer l'observation nous avons été parcimonieux dans le prélèvement du liquide riche en trypanosomes. Quoiqu'il en soit, cette infection coelomique intense apparaît jusqu'ici comme exceptionnelle.

Le fait, s'il se reproduisait, aurait une portée d'un intérêt incontestable. Il montrerait que des parasites flagellés, primitivement localisés à l'intestin, peuvent par blessure de ce dernier envahir la cavité coelomique et s'y établir à demeure. Ne peut-on penser que c'est ainsi que s'est réalisée l'infection première de *Crithidia hyalommae*; ce parasite se serait ensuite exclusivement adapté au liquide coelomique, sa transmission devenant héréditaire.

Il est connu que chez les ornithodoros qui sont nourris sur des animaux infectés de *Trypanosoma cruzi*, s'établit une infection intestinale durable [Mayer (5), Brumpt (4)]. Quoique les formes intestinales inoculées à d'autres animaux confèrent l'infection (Brumpt) les tiques ne transmettent pas la trypanosomiase en se gorgeant sur des animaux (Mayer). Le fait que le cobaye sur lequel se sont nourris le 9-11, onze des tiques infectées le 23-VIII, à travers la cuticule, a contracté la trypanosomiase, mérite d'être commenté. Peut-on le mettre en rapport avec la présence de parasites dans le liquide coelomique, ou s'est-il agi d'une exception? Mayer M. et Da Rocha Lima rapportent des résultats négatifs (au cours d'une expérience prolongée pendant 5 ans [5]). Les auteurs allemands précisent que malgré la présence dans les liquides excrétés par les tiques de formes vivantes crithidiennes et trypanosomes, aucune souris sur lesquelles les ornithodoros s'étaient nourris, s'est infectée. E. Brumpt d'autre part m'a confirmé ne pas avoir obtenu de transmission du trypanosome par des ornithodoros dont le tractus intestinal était infecté. Nous ne voulons pas exclure la possibilité de l'ingestion par le cobaye piqué non de tiques qui étaient surveillées, mais du liquide excrété par elles après que l'animal fut détaché de la planche à laquelle il avait été attaché durant le repas des ornithodores.

Mais si cette éventualité ne s'est pas produite, il faudrait bien admettre la réalité d'une transmission par la piqûre. Nous ne croyons pas à la présence de trypanosomes dans le liquide salivaire, car nous avons vainement cherché de la découvrir dans les coupes de l'ornithodoros avec infection généralisée du coelum.

Dans le liquide coxal excrété par les tiques qui le 9-11-44 se sont nourries sur le cobaye qui contracta l'infection le 27-7-44, existaient des formes crithidiennes et trypanosomes. Celles-ci furent donc déposées sur la peau du mammifère. Une partie de ce liquide aspiré par la seringue fut inoculée à un cobaye qui fut trouvé positif déjà le 27-11-44, soit un mois avant l'animal même sur lequel les ornithodores s'étaient nourris. La pénétration par la peau de quelques parasites ne peut être exclue et explique bien l'infection.

Il semble logique d'admettre que chez les tiques portant une infection coelomique, les formes excrétées par les ornithodores sont plus nombreuses et les chances d'infection ainsi accrues.

Mais le fait doit pouvoir se reproduire, et avant de conclure nous attendrons les résultats de nouvelles expériences qui sont en cours.

CONCLUSIONS.

1) L'inoculation intracoelomique concomittante avec l'inoculation dans l'intestin de cultures sur NNN de *trypanosoma vespertilionis* et *trypanosoma pipistrelli*, ne détermine pas chez *Ornithodoros moubata* une infection générale durable. La multiplication des parasites dans le coelum reste modérée, et presque exclusivement intracellulaire. Le maximum de durée du parasitisme intracoelomique n'excéda guère 3 mois.

2) L'inoculation coelomique concomittante avec l'inoculation dans l'intestin de cultures sur NNN de *Trypanosoma cruzi* détermine chez *Ornithodoros moubata* une infection coelomique dont la durée peut atteindre 6 mois. La multiplication des parasites dans le coelum reste en général modérée, elle aboutit pourtant chez une tique sur 38 à l'infection intense de toute la cavité générale du corps de l'arthropode, qui parut souffrir de ce parasitisme.

3) Chez tous les ornithodorus inoculés, la multiplication des trypanosomes s'accompagne d'une réaction cytologique se traduisant par l'apparition d'éléments jeunes et de cellules à vacuoles claires caractéristiques dans lesquels se meuvent activement et en nombre variable les flagellés. Cette réaction s'éteint peu après la disparition du parasitisme intracoelomique.

4) La transmission en série de l'infection générale du coelum ne put être réalisée.

5). Au cours de leur repas sur cobaye, onze ornithodores inoculés à travers la cuticule, et parmi lesquels se trouvait la tique avec l'infection coelomique intense, ont transmis le *trypanosoma cruzi* à l'animal sur lequel ils se sont nourris.

Il n'est pas certain que cette transmission soit à mettre en rapport avec l'infection intracœlomique des tiques. De nouvelles expériences seraient nécessaires pour établir ce fait.

(Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Anvers.)

Samenvatting. — Eene reeks proeven ondergenomen met het oog een duurzame infectie van de coelomholte der teek *Ornithodoros moubata* met trypanosomen te verwekken hebben gedeeltelijk positieve resultaten gegeven.

Culturen van *Trypanosoma vespertilionis*, *Trypanosoma pipistrelli* en *Trypanosoma cruzi* welke allen bij voorgenoemde teek, duurzame darminfecties verwekken, worden met een mikropipette meestendeels rechtstreeks door de huid door in het coelom ingespoten.

Een vermeerdering der trypanosomen met bijzondere celreactie ontwikkeld zich en kan zich tijdelijk behouden. De trypanosomen zijn bijna allen intracellulair. Bij *Trypanosoma cruzi* kan de infectie tot 6 maanden blijven bestaan.

Bij een enkele der met *Trypanosoma cruzi* besmette teeken, ontwikkelde zich een hooge infectie te vergelijken met deze bekend voor *Crithidia (Trypanosoma) hyalommae* bij verschillende ixodidae soorten.

Een *Cavia* waarop de geïnfekteerde teken zich hadden gevoed werd door *Trypanosoma cruzi* besmet gevonden.

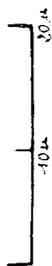
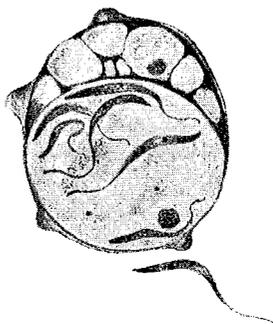
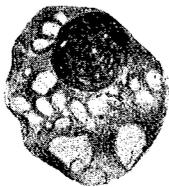
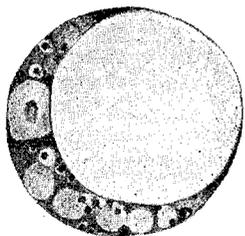
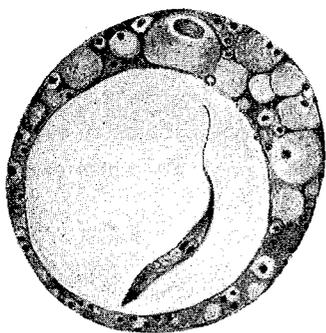
De herhaling van dit laatste feit in tegenstrijding met wat door andere auteurs (Mayer en Brumpt) vastgesteld eischt nieuwe opzoekingen.

BIBLIOGRAPHIE.

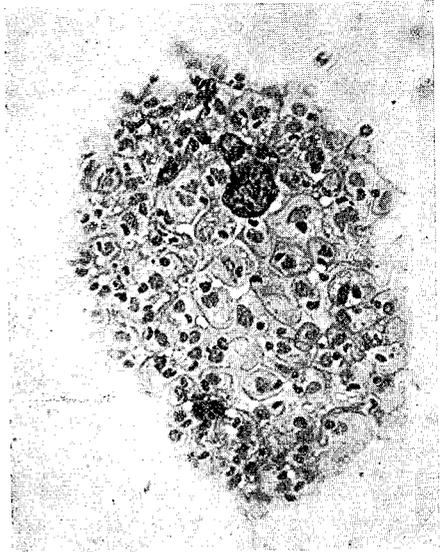
1. J. Rodhain. — Mode de transmission de *Trypanosoma vespertilionis* Battaglia par les arthropodes. *C. R. Société de Biologie*, 1939, t. 131, p. 814.
2. E. Brumpt. — Présentation de préparations microscopiques. Transmission expérimentale d'un trypanosomes parasite de la cavité générale d'*Hyalom-*

- mae pusillum* à diverses espèces de Tiques. *Bull. Soc. pathol. Exot.*, 1938, t. XXXI, p. 41.
3. J. Rodhain et G. Boné. — Essais d'infection de la cavité générale de la tique *Ornithodoros moubata* par *Trypanosoma pipistrelli* et *T. vespertilionis*. *Acta biologica belgica*, 1943, 1-2-5.
 4. E. Brumpt. — *Trypanosoma cruzi* évolué chez *Conorhinus megistus*, *Cimex lectularius*, *Cimex boueti* et *Ornithodoros moubata*. Cycle évolutif de ce parasite. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1912, vol. 5, p. 360.
 5. M. Mayer et da Rocha Lima. — Zum verhalten von *Schizotrypanum cruzi* in warm blütern und arthropodes. *Asch. Sch. u. Trop. Hyg.*, 1914, vol. XVIII.
 6. C. A. Hoare. — Miscellanea protistologica. Development of mammalian trypanosomes in the body-cavity of caterpillars. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. and Hyg.*, 1938, vol. XXXII, p. 8.
-

Planche I.



1. — Cellule réactionnelle jeune.
- 2-3-4. — Cellules vacuolisées dont 3 et 4 parasitées vues à frais.
5. — Cellule parasitée dessinée après coloration au Wright.



1 et 2. — Microphotos de cellules parasites du liquide coelomique de la tigue avec infection générale du coelom
3. — Formes diverses libres dans le liquide coelomique de la même tigue.