Les hémolysines leptospiriennes

PAR

J. VAN RIEL (*).

(Reçu pour publication le 20 mai 1959).

Il y a une dizaine d'années, on parlait couramment d'espèces de leptospires. Nous avions à diverses reprises (1946, 1950) critiqué cet emploi abusif qui s'appuyait sur des critères qui nous paraissaient discutables : répartition géographique, pouvoir pathogène chez l'homme et chez l'animal de laboratoire, réservoir animal de prédilection, caractères cliniques de la maladie déterminée. En 1952, un Comité d'Experts réuni à Washington sous l'égide de la F. A. O. estimait que le terme d'espèce devait provisoirement être évité dans ce domaine et préconisait la dénomination « sérotype ». Divers sérotypes furent par suite de leurs affinités antigéniques rassemblés en sérogroupes. Les analyses sérologiques par la réaction d'agglutination-lyse complétée par l'épreuve de saturation des anticorps aboutirent à la classification de Wolff (1952), qui, présentée par Wolff et Broom (1953-1954), fut adoptée par le « Leptospira Subcommittee » du Comité international de la Nomenclature bactériologique, lors de sa réunion à l'occasion du Sixième Congrès international de Microbiologie à Rome. Le tableau de Wolff et Broom ne constitue pas un système rigide, mais un cadre provisoire dans lequel 36 souches sont classées en sérotypes et en sérogroupes.

Toutes les tentatives entreprises pour trouver dans le groupe vaste et complexe des leptospires pathogènes un autre critérium de différenciation que les caractères antigéniques avaient jusqu'à présent échoué. Tous les chercheurs ont observé des particularités morphologiques de telle ou de telle souche, mais ces caractéristiques individuelles n'ont pu être utilisées comme critère de classification. De même aucune réaction biochimique n'a permis de distinguer les divers leptospires. Aussi l'analyse sérologique constituait-elle la seule base valable pour différencier les souches leptospiriennes.

(*) Travail effectué avec l'aide du Fonds National de la Recherche Scientifique.

Dans le but notamment de sortir de l'impasse sérologique et de trouver d'autres caractères différentiels, des travaux de biochimie microbienne ont été entrepris, en particulier aux Etats-Unis, mais il s'agit d'une tâche longue et ardue. Une des difficultés que rencontrent ces investigations chimiques est la concentration fort basse des cultures sur nos milieux actuels, c'est-à-dire du sérum de lapin dilué; après 11 jours de culture, on obtient rarement plus de 75 mg de corps leptospiriens secs par litre (Hiatt, 1952).

Quoi qu'il en soit, un fait nouveau, très simple, permet d'entrevoir un autre fil conducteur, c'est la mise en évidence dans certaines cultures leptospiriennes d'un facteur capable d'hémolyser les globules rouges, en particulier ceux de mouton. Cette constatation a été faite d'une part au Walter Reed Institute par Alexander et ses collaborateurs (1956) et d'autre part, tout à fait indépendamment d'ailleurs, à l'Université de Virginie par Russell (1954-1956). Des deux côtés l'observation fut faite par hasard, et par le même hasard : un contrôle pour contamination bactérienne éventuelle d'une culture de leptospires sur gélose au sang. Russell constata une zone nette d'hémolyse à l'endroit où elle avait déposé une goutte d'une culture de *Leptospira pomona* et Alexander fit la même constatation en éprouvant la pureté d'une culture d'une souche isolée en Malaisie, qu'il désigne comme *L. hemolyticus*.

Ces auteurs firent une première étude du phénomène et, bien que leurs techniques soient différentes, on peut tirer de leur analyse quelques premières conclusions. Certaines souches produisent ce facteur hémolytique et d'autres pas. Cette hémolysine est nettement active sur les globules rouges de mouton, de chèvre et de bœuf, moins ou pas sur ceux de onze autres espèces animales étudiées. Elle n'est pas dialysable. Le pH optimum est 7.4 à 8. Le sérum de lapin inhibe l'hémolyse. L'activité est maximum à 37°, décroît avec la température, existe encore à 4°, est nulle à 0°; elle n'est pas détruite par la lyophilisation; elle est supprimée par le chauffage à 56°. Sur la qualité antigénique du principe hémolytique, les premiers résultats sont divergents.

Les auteurs américains voyaient dans ces recherches une possibilité d'expliquer le mécanisme encore obscur de la pathogénie de la leptospirose. Cette action hémolytique de certaines souches ne serait-elle pas une propriété d'une toxine leptospirienne ? Les expériences de D. C. Bauer et E. V. Morse (1958) ne plaident pas en faveur de cette hypothèse; ces auteurs ont comparé le pouvoir hémolytique *in vitro* de deux souches de *L. pomona* à l'évolution de leur virulence chez le hamster; ils n'ont trouvé aucune corrélation entre les deux caractères. Un intérêt majeur de cette propriété

hémolytique de certains leptospires pourrait être son utilisation comme critère de différenciation.

Nous avons recherché le pouvoir hémolytique des 70 souches que nous entretenons dans notre laboratoire en appliquant l'épreuve quantitative de Russell, légèrement modifiée. On prépare une série de dilutions doubles dans de l'eau physiologique d'une culture d'une dizaine de jours. A 0,5 ml de chaque dilution on ajoute un volume égal d'une suspension de globules rouges lavés de mouton, dans une solution isotonique tamponnée au pH 7,4. On laisse les tubes au bain-marie à 37° pendant 4 heures et ensuite à la glacière pendant 12 heures. Le pourcentage d'hémolyse est estimé par comparaison avec des mélanges témoins préparés d'avance. Dans le premier et le second tube de la série (dilution 1/2 et 1/4), il y a toujours de l'hémolyse, même chez le témoin, parce que le milieu de Korthoff utilisé par Russell et par nous-même est hypotonique. C'est évidemment la raison pour laquelle Russell ne note ses résultats qu'à partir de la dilution 1/8. Afin de pouvoir faire la lecture à partir de la dilution 1/2, nous ajoutons à chacun des deux premiers tubes, avant d'y introduire la suspension de globules rouges, la quantité d'une solution saline concentrée, nécessaire pour rendre le liquide isotonique aux globules rouges.

Dans notre tableau les souches sont groupées suivant la classification de Wolff et Broom, complétée par les types sérologiques nouveaux que nous avons isolés. Certaines de nos souches n'ont pas encore été définitivement classées, les résultats des épreuves croisées d'agglutination-lyse n'ayant pas été complétées par la saturation des anticorps; nous les marquons d'un astérisque (*).

Nous avons rapproché nos résultats de ceux de Russell, qui malheureusement se contente parfois d'indiquer le sérotype en cause mais pas la souche, et de ceux d'Alexander et de ses collaborateurs; la technique de ces derniers étant assez différente de celle de Russell, ce rapprochement n'a qu'une valeur indicative.

Dans le groupe *icterohaemorrhagiae* (1), les souches classiques Wijnberg et Kantorowicz, celles que nous avons isolées en Belgique chez le porc (PB_2), chez l'homme (Stuyvenberg) et chez *Rattus norvegicus* (D_{14} Cheratte 18, Liège 19), les sérotypes *L. naami* et *L. mankarso* sont tous dépourvus de la propriété hémolytique. De même Alexander d'une part et Russell d'autre part trouvent respectivement 2 et 3 souches de *L. icterohaemorrhagiae* non hémolytiques. Contrastant avec ces résultats négatifs, *L. ndambari* est nettement hémolytique. Ce sérotype reconnu par nous en Afrique fait incontestablement partie du sérogroupe *icterohaemorrhagiae;* il est représenté par les souches Ndambari et 21543. Les souches

Ndahambukuje et Mwogolo sont apparentées à *L. ndambari,* mais leur identification précise par la saturation des anticorps n'est pas encore terminée.

Au laboratoire d'Alexander comme au nôtre, *L. javanica* ne manifeste aucune propriété hémolytique. Nous faisons la même constatation pour *L. sarmini.*

Alexander et ses collaborateurs (1957) ont préconisé d'inclure *L. schüffneri* et *L. benjamini* dans un sérogroupe *canicola* élargi, qui comprendrait donc les groupes IV, V et VI de la classification de Wolff et Broom. Dans cet ensemble doit de toute évidence prendre place *L. kamituga,* qui est apparenté à *L. canicola,* mais en est distinct. De même les souches Bafani et Kahendo, identiques d'après la saturation des anticorps, représentent un autre sérotype de ce groupe. Nous avons observé un effet hémolytique de la culture de toutes les souches de ce sérogroupe *canicola* élargi; mais nos résultats divergent un peu de ceux des auteurs américains. Russell constate une faible hémolyse pour 2 souches *canicola,* dont la souche Ruebush. Alexander trouve 2 *canicola* hémolytiques et 2 qui ne le sont pas, dont la souche Ruebush; les 4 souches de *L. schüffneri* qu'il utilise ne sont pas hémolytiques, *L. benjamini* l'est après 6 heures.

Alexander, Russell et nous-même ne constatons aucune hémolyse déterminée par *L. ballum.*

La souche Salinem, *L. pyrogenes,* s'est montrée hémolytique chez nous, pas chez Alexander; mais nos résultats concordent pour *L. cynopteri,* qui est hémolytique et pour *L. sentoti* qui ne l'est pas.

Du groupe *L. autumnalis* (XI), nous n'avons pas trouvé la souche Rachmat hémolytique, tandis que Russell observe de l'hémolyse par une culture d'une souche non précisée de *L. autumnalis* et qu'Alexander observe l'absence d'hémolyse avec 3 souches de ce groupe et une hémolyse retardée avec une quatrième.

L. djasimani provoque une hémolyse dans notre épreuve, mais pas dans celle pratiquée par Alexander. Pour la souche Ballico, *L. australis A,* au contraire, unanimité dans les trois laboratoires : elle est hémolytique. Même unanimité en ce qui concerne le pouvoir hémolytique, généralement élevé, de *L. pomona* qui est noté sur 13 souches par Russell, 3 par Alexander et 2 par nous.

Russell a examiné une souche de *L. grippotyphosa* et l'a trouvée hémolytique; dans le tableau d'Alexander ce sérotype ne figure pas. Nous avons éprouvé l'action hémolytique de 11 souches de *L. grippotyphosa,* 3 de collection et 8 isolées au Congo. Toutes sont hémolytiques, à des degrés divers d'ailleurs.

Dans le sérogroupe *hebdomadis,* 3 souches isolées en Afrique Centrale (Kabura, Jules, Barthélémy) que nous avions considérées comme appartenant à cet ensemble (Van Riel, 1952; Van Riel et Szpajshendler, 1955; J. Van Riel, L. Szpajshendler et M. Van Riel, 1956) ont été exactement situées par Wolff et Bohlander (1958), dont l'analyse antigénique a porté à 10 le nombre des sérotypes du groupe. Des 12 souches bien identifiées que nous avons éprouvées, trois seulement, *L. hebdomadis, L. kremastos* et *L. mini A* sont hémolytiques. Remarquons que la souche Barthélémy, *L. mini AB,* qui ne lyse pas les globules rouges, provient d'un cas humain mortel de fièvre bilieuse hémoglobinurique (Van Riel et Szpajshendler, 1955). La souche non précisée de *L. hebdomadis* éprouvée par Russell n'était pas hémolytique. Alexander, de son côté, constate l'action hémolytique d'une souche sur quatre de ce groupe. Cet auteur avait d'abord observé le facteur hémolytique chez une souche du groupe *hebdomadis,* qu'il avait pour cette raison nommée *L. hemolyticus;* il isola ultérieurement une autre souche qui lui parut appartenir au même sérotype, sur la seule base, il est vrai, des réactions croisées d'agglutination-lyse, mais qui ne détermina pas d'hémolyse.

Nous avons également recherché le facteur hémolytique dans la culture de 6 souches africaines dont l'identification complète par la saturation des anticorps n'est pas achevée : 3 lysaient les hématies de mouton, les 3 autres pas. Le sérogroupe *hebdomadis* nous paraît tant du point de vue de l'action hémolytique, que de celui de la composition antigénique, un ensemble hétérogène, qui pourrait bien devoir être subdivisé dans l'avenir.

Dans nos épreuves, la souche van Tienen ne fut pas hémolytique, tandis que la souche Mahamba, considérée provisoirement comme un *L. bataviae* d'après l'agglutination-lyse, le fut faiblement. Pour Alexander, les 3 souches de *L. bataviae* dont il s'est servi sont hémolytiques, deux d'entre elles, dont van Tienen, tardivement. La souche de *L. bataviae* examinée par Russell n'était pas hémolytique.

L. semaranga et *L. andaman A* ne furent pas trouvées hémolytiques, ni par Alexander ni par nous.

Au laboratoire de Russell et dans le nôtre, *L. hyos* ne manifesta aucune action hémolytique.

Quatre souches que nous avons isolées au Congo appartiennent à un nouveau sérotype, *L. kisuba* (J. Van Riel, L. Szpajshendler et M. Van Riel, 1956), dont la classification dans le sérogroupe *hyos* semble s'imposer, au même titre que *L. bakeri,* décrit par

Mildred M. Galton et ses collaborateurs (1957). Ces 4 souches sont dépourvues de pouvoir hémolytique.

Enfin, *L. butembo* (Van Riel, 1946), qui ne peut être identifié à aucun sérotype du tableau de Wolff et Broom, est légèrement hémolytique.

Dans cette analyse, les résultats divergents des nôtres peuvent résulter de l'emploi d'une technique différente (Alexander) ou de l'absence de dénomination de la souche employée (Russell), mais les épreuves donnant des résultats convergents ne nous paraissent pas dépourvues de signification : les sérogroupes *L. icterohaemorrhagiae* (sauf *L. ndambari*) et *L. hyos* ne possèdent pas le caractère hémolytique qui est général pour *L. pomona* et L. *grippotyphosa*. En somme une corrélation semble exister entre l'antigène intéressé dans l'agglutination-lyse et le constituant de la cellule microbienne responsable de l'hémolyse.

Les premiers résultats de ce travail préliminaire devront être complétés par des analyses parallèles plus fouillées du pouvoir hémolytique et de la structure antigénique, qui montreront définitivement si le facteur hémolytique présent dans la culture de certains leptospires pathogènes est un caractère suffisamment constant pour servir comme critère de classification.

Résumé. — *L'auteur a recherché le pouvoir hémolytique des 70 souches de leptospires pathogènes qu'il entretient dans son laboratoire, en appliquant l'épreuve quantitative de Russell, légèrement modifiée. Une corrélation semble bien exister entre l'antigène intéressé dans l'agglutination-lyse et le constituant de la cellule microbienne responsable de l'hémolyse. Si le facteur hémolytique présent dans la culture de certains leptospires s'avérait suffisamment constant, il pourrait servir de critère de classification.*

Samenvatting. — *Schrijver is de hemolytische werking nagegaan van de 70 leptospira-stammen die hij in zijn laboratorium onderhoudt, door toepassing van de kwantitatieve techniek van Russell met lichte wijzigingen. Een correlatie blijkt wel te bestaan tussen het in de agglutinatie-lysis betrokken antigeen en het component van de microbische cel dat verantwoordelijk is voor de hemolyse. Indien de aanwezigheid van een hemolytische factor in de cultuur van bepaalde stammen zich als een voldoend constant verschijnsel voordoet, dan zou hij als classificatie-criterium kunnen worden gebruikt.*

Summary. — *The author has investigated the haemolytic power of 70 strains of pathogenic leptospires maintained in his laboratory, using Russell's quantitative test, slightly modified. A correlation may well exist between the antigen concerned in agglutination-lysis and the constituent of the microbial cell responsible for the haemolysis. If the haemolytic factor present in cultures of certain leptospires is sufficiently constant, it could serve as a criterion for classification.*

Zusammenfassung. — *Verfasser hat das Haemolysevermögen von 70 pathogenen Leptospirenstämmen, die er in seinem Laboratorium hält, unter Anwendung der von ihm leicht abgewandelten quantitativen Nachweismethode nach Russell untersucht. Es scheint eine Korrelation zwischen dem die Agglutinationslyse betreffenden Antigen und dem für die Haemolyse verantwortlichen Zellbestandteil des Mikroorganismus zu bestehen. Wenn sich der haemolytische Faktor in der Kultur gewisser Leptospiren als hinreichend konstant erweisen sollte, könnte er als Klassifikationskriterium dienen.*

Resumen. — *El autor ha investigado el poder hemolitico de las 70 cepas de leptospiras patògenas que mantiene en el laboratorio, aplicando la prueba cuantitativa de Russell, ligeramente modificada. Una correlaciòn muy bien parece existir entre el antìgeno interesado en la aglutinaciòn-lisis y el constituyentè de la célula microbiana responsable de la hemolisis. Si el factor hemolitico presente en el cultivo de algunas leptospiras se comprobase como suficientemente constante, podria alcanzar cierto valor como criterio de clasificaciòn.*

Institut de Médecine Tropicale d'Anvers. Laboratoire des Spirochétoses.

BIBLIOGRAPHIE.

Alexander, A. D., Evans, L. B., Toussaint, A. J., Marchwicki, R. H. & McCrumb Jr., F. R. — Leptospirosis in Malaya. II. Antigenic analysis of 110 leptospiral strains and other serologic studies. Amer. Jl. Trop. Med. and Hyg., 1957, **6**, 871.

Alexander, A. D., Smith, O. H., Hiatt, C. W. & Gleiser, C. A. — Presence of Hemolysin in cultures of pathogenic leptospires. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1956, **91**, 205.

Bauer, D. C. & Morse, E. V. — Variation and Hemolysin production in relation to virulence of *Leptospira pomona*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1958, **98**, 505.

Galton, M. M., Powers, D. K., McKeever, S. & Gorman, G. W. — Identification of two leptospiral serotypes new in the United States. Public Health Reports, 1957, **72**, 431.

Hiatt, C. W. — Biochemical studies of the leptospiroses. Symposium on the Leptospiroses. Med. Sc. Pub., n° 1. Army Med. Service Grad. School, U. S. A. Government Printing Office, 1953, 154.

Russell, C. M. — Hemolytic factor associated with *Leptospira pomona*. Fed. Proc., 1954, **13,** 510.

— A « hemolysin » associated with Leptospirae. Jl. Immunol., 1956, **77,** 405.

Van Riel, J. — Le foyer centro-africain de leptospirose. Contribution au problème de l'unité ou de la pluralité des leptospires du type *L. icterohaemorrhagiae*. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 1946, **26,** 197.

— Enkele beschouwingen over leptospirae en leptospirosis. Ned. Tijdschr. v. Geneesk., 1950, **94,** 352.

— Sur l'existence au Congo belge d'un leptospire du groupe « *hebdomadis* ». Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 1952, **32,** 683.

Van Riel, J. & Szpajshendler, L. — Fièvre bilieuse hémoglobinurique et leptospirose. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 1955, **35,** 93.

Van Riel, J., Szpajshendler, L. & Van Riel, M. — Etude clinique, bactériologique et épidémiologique d'un nouveau foyer de leptospirose au Congo belge. Bull. Soc. Path. Exot., 1956, **49,** 118.

Wolff, J. W. — The classification of pathogenic leptospires. Symposium on the Leptospiroses. Med. Sc. Pub., n° 1, Army Med. Service Grad. School, U. S. A. Government Printing Office, 1953, 174.

Wolff, J. W. & Bohlander, H. J. — Serological classification of pathogenic leptospires. Analysis and comparison of six strains related to serotypes of the *hebdomadis* serogroup. Doc. Med. Geogr. et Trop., 1958, **10,** 37.

Wolff, J. W. & Broom. J. C. — Classification of the genus Leptospira, Noguchi 1917 with a note on the authenticity of Leptospira strains. Atti del VI Congresso Internazionale di Microbiologia, Roma, 1953, **5,** 42.

— — The genus Leptospira, Noguchi 1917. Problems of classification and a suggested system based on antigenic analysis. Doc. Med. Geogr. et Trop., 1954, **6,** 77.

Hémolyse des globules rouges de mouton par des souches de Leptospires pathogènes.

Sérogroupe d'après Wolff et Broom	Sérotype	Souche	Résultats personnels (Titre de l'hémolyse)	Résultats de A. D. Alexander et coll.			Résultats de C. M. Russell (Titre de l'hémolyse)
				Souche	% hémolyse après 4 heures	% hémolyse après 6 heures	
I	*L. icterohaemorrhagiae AB*	Wijnberg	0		—	—	3 souches 0
	L. icterohaemorrhagiae A...	Kantorowicz	0	Nouveau sérotype A (De Gray)	—	—	
	L. icterohaemorrhagiae (*)	PB_2	0				
	L. icterohaemorrhagiae (*)	D14	0				
	L. icterohaemorrhagiae (*)	Cheratte 18	0				
	L. icterohaemorrhagiae (*)	Liège 19	0				
	L. icterohaemorrhagiae (*)	Stuyvenberg	0				
	L. naami	Naam	0				
		Mankarso	0				
	L. ndambari	Ndambari	256				
	L. ndambari	21.543	256				
	Sérogroupe icterohaemorrhagiae (*)	Ndahambukuje	32				
	Sérogroupe icterohaemorrhagiae (*)	Mwogolo	0				
II	*L. javanica*	Rat Batavia 46	0		—	—	
III	*L. sarmini*	Sarmin	0				
IV	*L. schüffneri*...	Vleermuis 90C	32	ML-2	—	—	
				Bishop	—	—	
				Cake	—	—	
				Asbahadur	—	—	
V	*L. canicola*	Hond Utrecht IV	32	Ruebush	—	—	2 souches (B7 et Ruebush) 8
				Campbell	16	46	
				Moulton	74	85	
				Nouveau sérotype (Jones)	—	—	
	L. kamituga	Kamituga	16				
	L. bafani...	Bafani	16				
	L. bafani...	Kahendo (13.027)	32				

Hémolyse des globules rouges de mouton par des souches de Leptospires pathogènes *(suite)*.

Sérogroupe d'après Wolff et Broom	Sérotype	Souche	Résultats personnels (Titre de l'hémolyse)	Résultats de A. D. Alexander et coll.			Résultats de C. M. Russell (Titre de l'hémolyse)	
				Souche	% hémolyse après 4 heures	% hémolyse après 6 heures		
VI	*L. benjamini*	Benjamin	64		—	47		
VII	*L. ballum*	Mus 102	0	Pasteur	—	—	1 souche	0
VIII	*L. pyrogenes*	Salinem	64		—	—		
				Nouveau sérotype (Biggs)	—	—		
IX	*L. cynopteri*	Vleermuis 3.868	16	3.522	7	78		
X	*L. sentoti*	Sentot	0		—	—		
XI	*L. autumnalis*	Rachmat	0	Akiyami A	—	—	1 souche	64
				Perret	—	—		
				Mason	—	55		
				Nouveau sérotype (Williams)	—	—		
XII	*L. djasimani*	Djasiman	16		—	—		
XIII	*L. australis A*	Ballico	16		73	74	1 souche	64
XIV	*L. pomona*	Pomona	256	LC 73	48	74	13 souches	512-1.024
	L. pomona	PB_1	256	LC 78	62	76		
				V-42	47	74		
XV	*L. grippotyphosa*	Moscou V	64				1 souche	16
	L. grippotyphosa	Duyster	512					
	L. grippotyphosa	Bernkopf	16					
	L. grippotyphosa	Nzirandukula	32-64					
	L. grippotyphosa	Muhigwa	8-16					
	(*)	Kasonia	16					
	(*)	Nsengayumva	256					
	(*)	Mwengesiali	32					
	(*)	Tusisi	128-256					
	(*)	Marceline	8-16					
	(*)	Cyprien	128					

Hémolyse des globules rouges de mouton par des souches de Leptospires pathogènes *(suite)*.

Sérogroupe d'après Wolff et Broom	Sérotype	Souche	Résultats personnels (Titre de l'hémolyse)	Résultats de A. D. Alexander et coll.			Résultats de C. M. Russell (Titre de l'hémolyse)
				Souche	% hémolyse après 4 heures	% hémolyse après 6 heures	
XVI	*L. hebdomadis*	Hebdomadis	16				1 souche 0
	L. medanensis	Hond HC	0		—	—	
	L. wolffi	3.705	0	ML-34	—	—	
	L. sejroe	M 84	0	Hemolyticus Marsh	65	78	
	L. sejroe	B B 1	0	Hemolyticus Buxton	—	—	
	L. saxkoebing	Mus 24	0				
	L. kabura	Kabura	0				
	L. kremastos...	Kremastos	16				
	L. jules	Jules	0				
	L. mini AB	Sari	0				
	L. mini AB	Barthélémy	0				
	L. mini A	Szwajizak	16				
	Sérogroupe hebdomadis (*)	Tsongo	0				
	Sérogroupe hebdomadis (*)	Kambere Messo	0				
	Sérogroupe hebdomadis (*)	Nona	0				
	Sérogroupe hebdomadis (*)	Kambale	128				
	Sérogroupe hebdomadis (*)	Wasaka	16-32				
	Sérogroupe hebdomadis (*)	Fungula	16-32				
XVII	*L. bataviae*	Van Tienen	0		—	85	1 souche 0
	(*)	Mahamba	32	HS-26	75	85	
				Quigley	—	45	
XVIII	*L. semaranga*	Veldrat S 173	0		—	—	
XIX	*L. andaman A*	CH 11	0		—	—	
XX	*L. hyos* syn. *mitis*	Mitis Johnson	0				1 souche 0
	L. kisuba	Kisuba	0				
	L. kisuba	Yalala	0				
	L. kisuba	Baganda	0				
	L. kisuba	Wakalania	0				
?	*L. butembo*	Butembo	16				