

## Du rôle des bactéries dans le tube digestif des insectes vecteurs des plasmodiidae et des trypanosomidae (\*)

PAR

Jean JADIN

---

*Résumé* — L'auteur montre comment il est parvenu à attribuer un rôle aux bactéries cytochrome oxydase positives, qui existent dans le tube digestif des anophèles transmetteurs de plasmodium des rongeurs. Il étend son champ de recherche et établit la présence de bactéries possédant les mêmes cytochromoïdes dans le tube digestif des culex et des aedes qui peuvent transmettre les plasmodium des oiseaux. Il les retrouve également dans le tube digestif des vecteurs de trypanosomidae comme les glossines, les triatomes et les puces.

### I. Introduction

Bien que l'on ait établi les transformations successives que subissent les Plasmodiidae chez leurs transmetteurs et que l'on connaisse le cycle évolutif des trypanosomidae chez leurs vecteurs, bien des points restent encore à préciser. Pour beaucoup de parasites, en effet, le pouvoir d'adaptation aux vecteurs est très variable. Ce caractère est le plus apparent chez les trypanosomidae.

*Triatoma infestans* peut s'infecter entre 54 à 90 p. cent avec *Trypanosoma cruzi*, d'après Dias (1940) et Brumpt arrivait à infecter 100 p. cent des triatomes mis à nourrir chez les porteurs de *T. cruzi*. C'est d'ailleurs ce que nous observons nous-mêmes dans notre travail de routine. Pour les trypanosomes africains 1 à 15 p. cent seulement des glossines dans les insectarium parviennent à retransmettre les trypanosomes suivant qu'il s'agit de *Trypanosoma gambiense*, *rhodesiense*, *brucei*, *congolense* ou *vivax*.

Par ailleurs les conditions climatiques, la température et l'humidité ont une importance considérable. A 80 p. cent d'humidité et

---

(\*) Ce travail a été présenté au IX<sup>e</sup> Congrès International de Microbiologie de Moscou, juillet 1966 et à la réunion de la Société Belge de Protozoologie le 10 mai 1967.

20 °C l'évolution du *T. gambiense* se fera en dix-sept à vingt jours chez *Glossina palpalis*, elle sera ralentie quand la température s'abaisse aux environs de 15°.

Il en est de même pour les plasmodidae. Tous les anophèles ne transmettent pas également bien les plasmodium. *A. funestus* et *A. gambiae* sont de loin de meilleurs transmetteurs que *A. coustani* ou *nili* et on a pu observer que, pour les plasmodium de singes, on trouvait avec difficulté un bon transmetteur, en dehors du vecteur naturel.

En dehors des facteurs extrinsèques influençant la longévité de l'anophèle par exemple, il y a certainement des facteurs intrinsèques à l'anophèle, qui influence l'infectivité de l'anophèle.

Ceci est indiscutable pour le *P. berghei*, qui expérimentalement est très bien transmis par *A. stephensi*, moins bien par *A. gambiae*, et très mal par *A. quadrimaculatus*.

Les plasmodium de l'homme comme le *P. vivax* évolueront en huit jours chez *labranchiae var. atroparvus* si la température est maintenue à 28° et il faudra quinze jours aux environs de 20°. Cette influence de la température a été mise en relief d'une manière toute particulière par Yoeli, suite à une observation simple mais rigoureuse de ce chercheur.

Depuis la découverte des plasmodium des rongeurs par Vincke et Lips en 1948, de nombreux chercheurs avaient tenté de réaliser la transmission cyclique de *P. berghei* par les anophèles entretenus en insectarium. Bien qu'ils aient pu observer des oocystes dans la paroi de l'estomac des anophèles infectés et parfois des sporozoïtes dans les glandes salivaires, Yoeli et Wall (1951), Perez-Reyes (1953) Ramakrishnan et ses collaborateurs (1953) puis Rodhain, Wanson et Vincke (1951-1955), ne parvenaient pas à obtenir une transmission cyclique régulière. Yoeli put constater lors d'un voyage dans la galerie forestière de la Kasapa, là où *P. berghei* a été découvert et là où se trouvent les *A. durenii*, transmetteurs de cet hématozoaire, que la température qui régnait au niveau des endroits de capture, variait de 18° à 21 °C. En respectant cette exigence, de retour à New-York, avec des *Anopheles durenii*, Yoeli, Most et Boné (1965) parviennent à réaliser aisément la transmission par piqûre d'anophèle. Ils firent la même constatation avec *A. quadrimaculatus* et *stephensi*.

Cette observation put rapidement être confirmée par Vincke et ses collaborateurs (1965) à Anvers et par Garnham à Londres.

Mais pourquoi la température a-t-elle une influence aussi considérable sur le cycle des plasmodidae ?

Nous avons pu observer en Afrique, dans la région de l'Equateur à Coquilhatville qu'un bon transmetteur du paludisme *Ano-*

*pheles moucheti* n'était pas porteur de sporozoïtes; sur 1225 *A. moucheti* disséqués de 1939 à 1941, aucun ne fut trouvé infecté. Ces anophèles capturés dans la cité provenaient des mêmes gîtes larvaires situés à proximité des îles du fleuve Congo et comme l'ont montré Wanson et ses collaborateurs en 1947, on pouvait déceler la présence d'un pigment bleu localisé au niveau des glandes salivaires et de la musculature thoracique des *A. moucheti*, capturés à Coquilhatville. Wanson attribuait à ce pigment une action nocive capable d'inhiber l'évolution des sporozoïtes.

Piron (1948) put d'ailleurs constater qu'à Bamanja, à quinze kilomètres de Coquilhatville, les mêmes *A. moucheti*, issus d'autres gîtes, étaient porteurs de sporozoïtes dans une forte proportion, si on gardait en captivité les anophèles au-delà de vingt jours. En utilisant des moustiques d'élevage, nous n'avions pas pu obtenir de transmission cyclique après les avoir nourris sur des porteurs de gamétocytes extra flagellants (1941). Ce pigment bleu devait avoir comme origine *Pseudomonas aeruginosa*, si répandu dans la nature.

Par ailleurs, au Rwanda, à Astrida (Butare) bien que le paludisme fut très répandu, les gîtes larvaires à anophèles étaient rares et limités à des portions d'eau restreintes à proximité des endroits de captures, comme si les larves ne trouvaient pas les conditions favorables dans les innombrables collections d'eau des marais cultivés.

Ce sont ces considérations qui nous ont amené à examiner la flore du tube digestif des vecteurs du paludisme et des trypanosomiases, étant donné que la température peut favoriser le développement d'une bactérie plutôt que d'une autre. Peu de travaux ont été effectués dans ce domaine. Fergusson et Micks (1961) ont constaté la présence de cinq espèces de bactéries chez *Culex pipiens fatigans*, et Atkin et Bacot (1917) ont montré que des œufs de *Aedes aegypti* se développent lorsqu'on les place dans de l'eau contenant des bactéries, mais restent au repos quand ces bactéries sont mortes ou si l'eau ne contient que des extraits bactériens. On sait par ailleurs que chez les sporozoaires comme les *Eimeridae*, la gamétogénèse requiert un milieu bactérien.

Kartulis, dès 1891, suggérait la possibilité d'une action bactérienne dans l'amibiase, Mathis, en 1918, confirmait cette hypothèse et Deschiens, en 1938, démontrait le rôle actif des bactéries dans la pathogénie de l'amibiase intestinale. Lamy et Piéchaud (1963) ont montré que dans l'amibiase, l'enkystement ne s'accomplit qu'en présence des germes anaérobies.

Isfan (1964) a recherché la corrélation existant entre *Trichomonas intestinalis* et *Staphylococcus aureus* Oxford chez le poulet inoculé expérimentalement. Il a noté une synergie matérialisée par

l'apparition d'ulcérations dans l'intestin des poulets ayant été infectés avec les deux souches à la fois, alors qu'elles n'apparaissent pas dans les infections à *T. intestinalis* ou à *St. aureus* seul.

Parmi les flagellates, *Strigomonas oncopelti* vit en symbiose avec une bactérie sensible à la pénicilline (Gill et Vogel, 1963) qui lui permet de se développer dans un milieu pauvre en acides aminés, la bactérie apportant les éléments indispensables à sa structure et qui ne se trouvent pas dans le milieu de culture. Ces constatations furent à la base d'une expérimentation qui nous amena tout d'abord à étudier les anophèles.

## II. Bactéries et sporogonie chez les Anophèles

L'examen de la culture de l'intestin de deux *Anopheles quadrimaculatus* qui nous avaient été envoyés par Yoeli et qui étaient porteurs de sporozoïtes, nous ont permis d'isoler des bactéries gram négatif. Puis ce fut l'étude de cent *A. durenii* ramenés par Bafort des galeries forestières de la Kasapa et de la Kisanga au Katanga qui nous permirent d'isoler trente-trois souches de pseudomonas à pigment rouge fournissant une réaction cytochrome-oxydase positive. Ces anophèles capturés dans la nature étaient porteurs de sporozoïtes dans une forte proportion.

À partir de plusieurs lots de *A. quadrimaculatus* dont la sporogonie évoluait favorablement, nous avons pu isoler des pseudomonas. Il en est ainsi notamment d'un lot comportant seize anophèles de l'estomac desquels nous isolons douze fois des pseudomonas, ces anophèles étaient porteurs de sporozoïtes.

Par ailleurs, nous ne pûmes isoler que des coques chez des *A. quadrimaculatus* qui avaient été nourris sur des ratons porteurs de gamétocytes, mais qui étaient dépourvus de sporozoïtes dans les glandes salivaires et chez qui les oocystes dégénéraient.

Plus tard, nous pûmes constater la présence de germes encapsulés dans les frottis effectués par Yoeli à New-York à partir de *A. stephensi* qui mouraient vingt-quatre heures après le repas infectant.

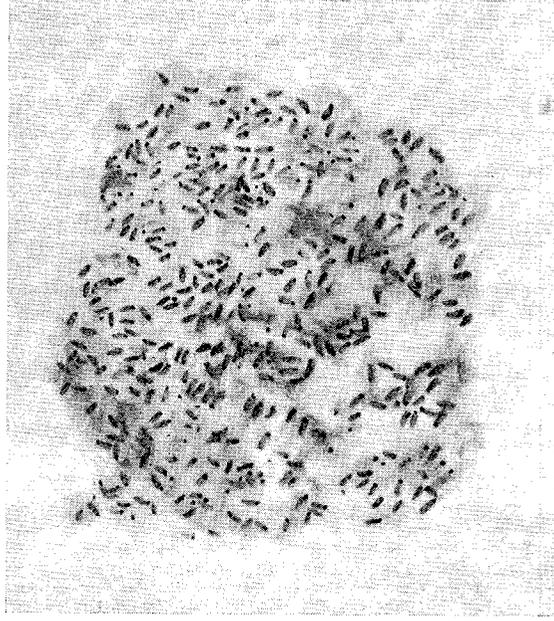
À Anvers, de cinquante-cinq moustiques appartenant à quatre lots de *A. gambiae* et *stephensi* qui mouraient vingt-quatre à quarante-huit heures après le repas sanguin infectant, nous avons isolé quarante fois un germe comparable et qui était une klebsiella. Si nous donnions à nourrir du bouillon glucosé contaminé avec ces klebsiella, les anophèles mouraient vingt-quatre et quarante-huit heures après un repas de sang, capables de faire multiplier ces germes encapsulés.

*Pseudomonas*.

Ki. 2. ~ 24-6-1966.

Ocul : x 10 x.

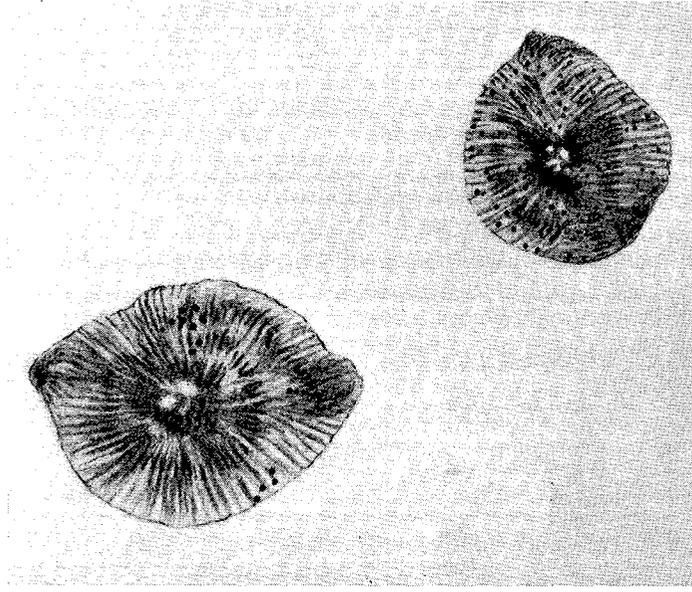
Obj. : 120.



10  $\mu$

Figure 1

*Pseudomonas* marqués, autoradiographie suivant la technique de Laytha (1954).



10  $\mu$

Figure 2

Oocystes de la paroi de l'estomac de *A. stephensi* bourrés de sporozoïtes marqués au C 14.

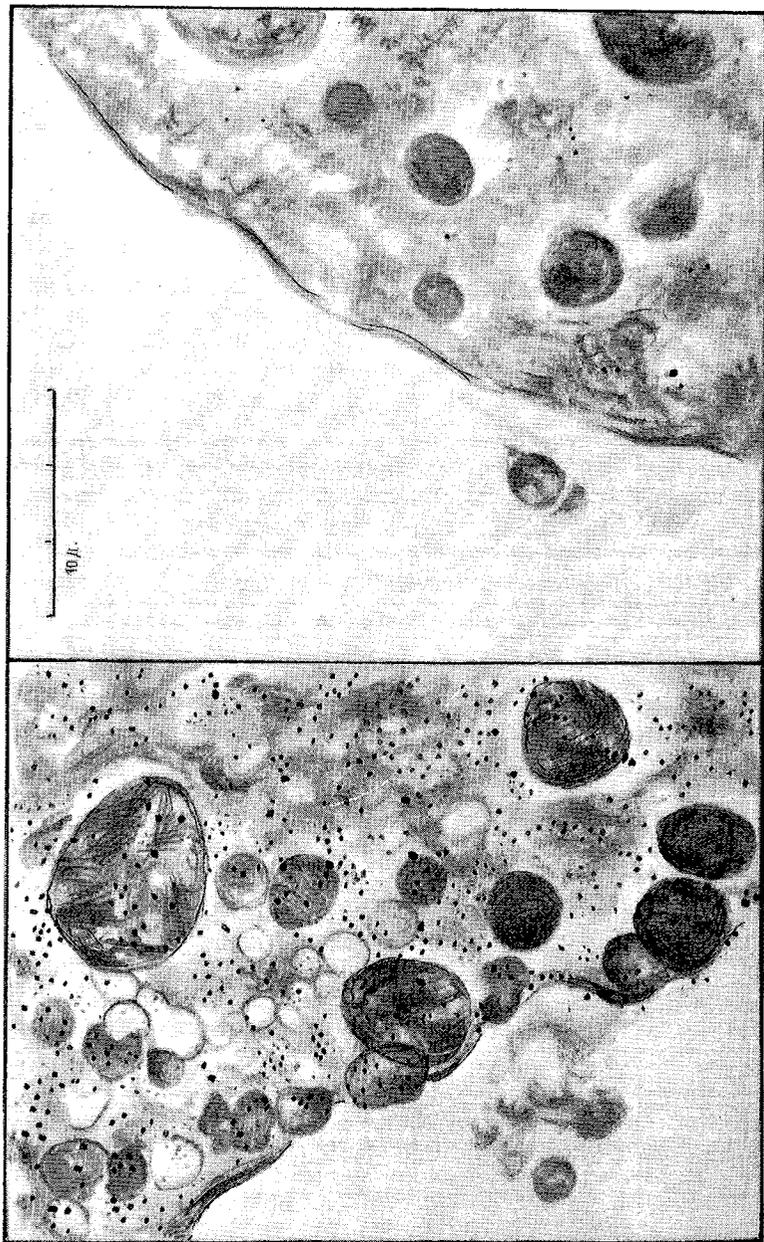
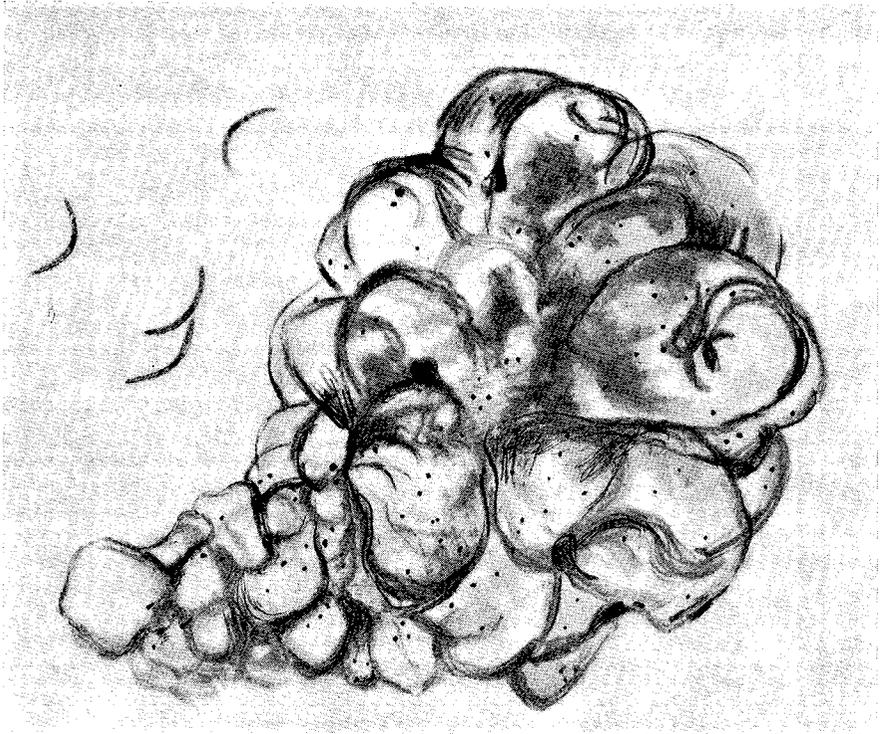


Figure 3  
Etallement d'un estomac de *Anopheles stephensi* porteurs d'oocystes  
avec grains noirs et d'un estomac dépourvu d'oocystes.



10  $\mu$

Figure 4

Glandes salivaires d'un *A. stephensi* parasité et qui a absorbé des bactéries marquées au C 14 (gross. 500  $\times$ ). Présence dans ces mêmes glandes de sporozoïtes marqués (gross. 1.200  $\times$ ).

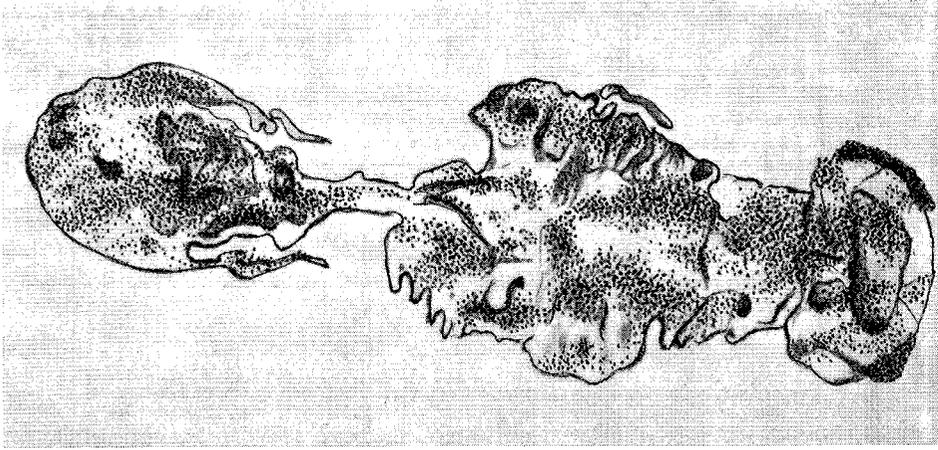


Figure 5

Autoradiographie d'une coupe frontale d'un anophèle qui a absorbé des bactéries marquées au C 14 pour situer la dispersion des acides aminés radioactifs.

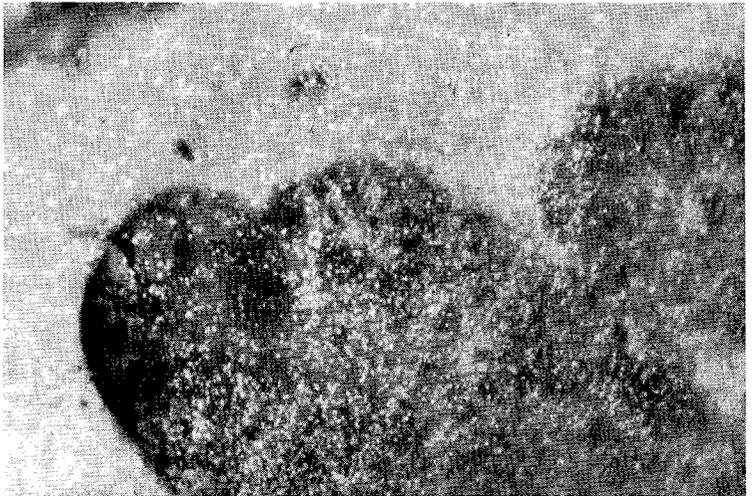


Figure 6

Microphotographie à l'ultrapak d'une partie de l'estomac d'un anophèle qui a absorbé des bactéries marquées au C 14.

Nous constatons ainsi que des bactéries du groupe des pseudomonas existaient chez des anophèles transmetteurs de *P. berghei* alors que les coques et les klebsiella entravaient le cycle de l'hématozoaire et pouvaient même tuer les anophèles. Yoeli avait, par ailleurs observé chez des *A. durenii* élevés à New-York, des microsporidies que Reynolds (1966) identifia. Ce *Plistophora culicis* est capable d'entraver tout élevage d'anophèles en laboratoire.

Nous avons alors recherché le rôle éventuel des germes présents dans le tube digestif des anophèles. Kamen (1963) a montré au cours de nombreux travaux que les bactéries pourprées, comme *Rhodospirillum rubrum* et *Rhodopseudomonas spheroides* possèdent une hémoprotéine avec un spectre comparable à celui de l'hémoglobine. Ce nouveau type d'hémoprotéine est extractible comme une protéine à deux hèmes solubles.

Ces hémoprotéines contiennent des phosphopyridines-nucléotides et un cytochrome (Vernon et Kamen, 1954). On sait le rôle important des cytochromes dans les processus d'oxydation cellulaires; ils assurent le transport des électrons. Gonda, Trant et Avid'Or (1957), avaient d'ailleurs retrouvé des cytochromes réductases dans des particules respiratoires chez *Aedes aegypti*.

Ambler (1963) a pu établir la séquence complète des acides aminés du cytochrome c 551 de *Pseudomonas fluorescens*. Quarante-deux acides aminés sont associés à l'hème formant une seule chaîne peptidique où figurent l'histidine, l'acide glutamique, la lysine, la glycine et divers autres acides aminés, qui peuvent intervenir dans la structure des acides nucléiques des sporozoïtes.

Les recherches de Kamen et de ses collaborateurs nous permettaient d'entrevoir le rôle des pseudomonas et de divers germes isolés dans l'intestin des anophèles au cours de la sporogonie. En effet, un anophèle qui a fait son repas sanguin peut être nourri uniquement à l'eau glucosée pendant tout le cycle sexué de l'hématozoaire qui conduira au sporozoïte. Les gamétocytes formeront des ookynètes qui iront se loger dans la paroi de l'estomac et qui fourniront un nombre considérable de sporozoïtes. Si on réfléchit à la quantité d'acides aminés nécessaires à ces multiplications, on doit bien penser que l'anophèle ne peut puiser les ressources indispensables dans le seul glucose qu'il absorbe. Par ailleurs, le sang que l'anophèle a prélevé lors du repas infectant est vite digéré. Jeffery (1956) estime qu'un *Anopheles quadrimaculatus* absorbe en moyenne 3,46 mg de sang, soit une fois et demi son poids. Dès lors, incapable d'effectuer un long vol, il se pose sur la paroi la plus proche. Un liquide clair contenant parfois des globules rouges s'écoule de l'anus pendant et après le repas, le reste est digéré en un temps variable qui dépend de la température et de l'humidité.

On sait aussi que les anophèles se nourrissent du sucre des fleurs (Hockings et Haeger, 1955).

Nos essais nous ont donné l'occasion d'isoler d'autres germes à partir du tube digestif des anophèles, notamment des *Enterobacteriaceae coliformes*, des *Camamonas*, des *Serratia marcessens* non pigmentés, mais les germes prédominants étaient des pseudomonas.

À cet égard, notons encore que des cytochromoïdes ont été trouvés chez divers *pseudomonas*, comme *Rhodopseudomonas palustris* (De Kerk, Bartsch et Kamen, 1963) *Pseudomonas fluorescens* (Ambler 1963) mais aussi chez *Escherichia coli* (Fujita et Sato, 1963).

Au cours de divers essais, nous avons donc cherché à établir que les pseudomonas isolés à partir de *A. dureni* capturés dans la nature étaient susceptibles de parasiter l'intestin des larves et des imago des anophèles transmetteurs et que ces germes ne contraient pas la sporogonie de l'hématozoaire. À cet effet, nous avonsensemencé l'eau des bacs où étaient déposés des œufs de *A. quadrimaculatus* et nous avons pu réisoler à partir des larves, des nymphes et des adultes, les germes que nous avons introduits dans l'eau enrichie, par ailleurs, des protéines nécessaires à la vie de l'anophèle à l'état larvaire. Ces germes nous avons pu les identifier grâce à leurs caractères morphologiques et culturels comme à leur propriété d'être agglutinés par les sérums spécifiques que nous avons préparés pour les identifier.

Arrivés au stade adulte, ces anophèles furent infectés en les mettant à nourrir sur des rats porteurs de gamétocytes de *P. berghei* et nous pûmes observer la retransmission de ce plasmodium à des animaux indemnes.

Nous avons alors marqué au moyen d'isotopes des pseudomonas d'origine anophélienne. Tout d'abord avec l'adénine C 14, puis avec du Fer 59.

Des germes qui s'étaient développés en présence de ces substances dans des bouillons de culture, furent lavés à plusieurs reprises et introduits dans l'eau des bacs de culture.

L'examen au *scintillateur naphthalène* ou au *compteur à scintillation au cristal d'Iodure de sodium* nous permit de contrôler la richesse en substances radioactives des émulsions microbiennes utilisées et nous pûmes observer que les larves comme les moustiques étaient marqués par ces mêmes substances.

Dans une seconde série de recherches, nous avons contrôlé la présence des isotopes par *autoradiographie*, en utilisant cette fois la glycine marquée au C 14. Des *A. stephensi* et *gambiae* sont nourris avec de l'eau glucosée enrichie des germes marqués et nous constatons par autoradiographie, la présence de C 14 dans ces ger-

mes. Puis après avoir parasité les anophèles avec du *P. berghei*, nous retrouverons la glycine marquée dans les oocystes et dans les sporozoïtes de l'estomac comme dans les sporozoïtes des glandes salivaires.

L'examen des autoradiographies à l'ultropak de Leitz nous permet d'observer les grains de sels d'argent qui s'éclairent à la lumière incidente et apparaissent sous forme de points lumineux. Cette lumière est projetée par une source lumineuse transmise par l'objectif spécial de ce système optique.

Afin de vérifier la distribution de la glycine marquée au C 14 dans l'anophèle, nous avons pu effectuer des coupes frontales chez ces insectes marqués et mettre en évidence la distribution de l'isotope dans tout le corps de l'insecte nourri avec cet acide aminé provenant des *pseudomonas* de son tube digestif.

### III. Stegomyes et pseudomonas

Afin d'étendre le champ de nos recherches, nous avons étudié quelques stegomyes qui transmettent les *plasmodidae* des oiseaux, entre autres *P. gallinaceum*.

Sur onze *Aedes aegypti*, parasités de *P. gallinaceum*, nous avons isolé cinq *pseudomonas*.

M. Bisoux (1966) a repris ces essais en étudiant les aedes provenant de l'insectarium de l'Institut de Médecine Tropicale, où ils sont élevés à une température constante de 24 °C. Ces aedes nourris sur poussins porteurs de *P. gallinaceum* sont infectés dans une proportion de 50 p. cent et présentent une sporogonie régulière. Les larves se développent dans de l'eau de ville à laquelle on ajoute des algues, des protozoaires, des bactéries et du « farex ». Du tube digestif de septante-huit aedes, Bisoux a pu isoler trente-deux fois des *Pseudomonas sp.* cytochrome oxydase positifs. Elle a en outre isolé des coco-bacilles gram négatifs, également mobiles, mais ne répondant pas à la réaction de cytochrome oxydase. Ainsi que Fergusson l'avait observé, on n'a pas isolé de bactéries gram positives, comme si l'intestin de ce culicide contenait une substance bactéricide ou bactériostatique envers les bacilles gram positifs.

Nous avons de plus fait rechercher par Bisoux le comportement des *Culex pipiens autogenicus* à Anvers. Sur trente-trois moustiques autogènes qui ont été capturés dans une fosse septique, n'ayant donc pas pris de repas sur un hôte, et qui peuvent atteindre leur développement et se reproduire en vase clos. Bisoux a isolé trente souches de *pseudomonas* cytochrome oxydase positifs en même temps que quelques *Escherichia coli*.

Chez les *Culex pipiens* libres, susceptibles d'avoir prélevé leur nourriture sur l'homme ou sur les animaux, nous n'isolons des germes cytochrome oxydase positifs que cinq fois sur trente. Il y a donc là un comportement différent, mais cela nous montre la présence des pseudomonas chez un autre culicide qui peut intervenir dans la transmission des plasmodium des oiseaux.

#### IV. Pseudomonas et transmission des Trypanosomidae

Avec Gatti (1966) à l'Université Lovanium (Kinshasa) au Congo, nous avons isolé vingt-trois souches de pseudomonas à partir de 289 *Glossina fuscipes quanzensis* capturées à proximité du village de Mikungu, sur la route de Kenge, non loin de l'aérodrome de la Ngili.

Burt (1946) avait observé dans la salive de vingt-six *Glossina morsitans* sur 3.856 glossines examinées, une proportion hautement significative de bactéries parmi les mouches infectées de trypanosomes. Ces bactéries n'entravaient pas la vie de l'insecte et n'avaient pas d'effet nocif vis-à-vis du trypanosome. Elles n'entraînaient pas non plus d'infection chez l'homme chez qui ces mouches porteuses de germes furent mises à nourrir. Cependant ces germes ne furent pas identifiés.

La présence des pseudomonas, comme nous l'avons observé chez certaines glossines, capables d'apporter ces hémoprotéines comportant des nucléoprotéotides et des cytochromes, est peut-être susceptible d'expliquer qu'un faible pourcentage de glossines deviennent infectantes.

Pour notre part, sur 289 glossines, nous trouvons vingt-trois glossines avec des germes cytochrome oxydase positifs dans leur tube digestif. Les hémoprotéines de ces germes apportent-elles aux trypanosomidés en évolution dans l'intestin ou au cours de la multiplication des chritidia dans les glandes salivaires du trypanosome du groupe *brucei* les éléments indispensables au retour à la forme métacyclique ?

Il est donc vraisemblable que des germes interviennent dans l'évolution des *trypanosomidae*. On sait, par ailleurs, que Roubaud et Theillard (1935) ont pu isoler chez la tsé-tsé des cocobacilles pathogènes qui détruisaient les élevages.

Enfin nous avons pu isoler à partir du tube digestif de larves et d'adultes jeunes de *Glossina morsitans* élevés en laboratoire des pseudomonas fournissant une réaction de cytochrome oxydase positive.

D. Le Ray a déterminé la flore bactérienne de *Triatoma infestans* élevés dans notre laboratoire. Sur trente-deux triatomes, il a isolé à vingt-trois reprises des germes qui fournissaient une réaction cytochrome-oxydase positive qui étaient des cocobacilles gram négatifs associés à des coques gram négatifs.

Des triatomes nourris avec des bâtonnets cytochrome-oxydase positifs, et ayant absorbé du milieu de culture riche en *T. cruzi* s'infectent aussi bien que les témoins qui n'avaient pas reçu la culture, tandis que les insectes ayant ingéré une culture d'un coque gram négatif isolé d'un triatome, n'ont présenté qu'un parasitisme très léger.

Sur trente *Xenopsylla cheopsis* d'élevage, Le Ray a pu isoler neuf fois des germes cytochrome-oxydase positifs. On sait que *X. cheopsis* peut transmettre *Trypanosoma lewisi*.

Sur deux puces sauvages (*Ceratophyllus fasciatus*) capturées sur *Rattus norvegicus*, il a isolé un pseudomonas qui associé à *Trypanosoma cruzi* en culture s'est montré très favorable à la multiplication des *Trypanosoma cruzi*.

### Discussion

Ainsi nous voyons dans le tube digestif des culicides (anophèles, stégomyes, culex) transmetteurs de *plasmodidae* ainsi que chez les glossines, les triatomes et les puces, transmetteurs de *trypanosomidae*, la présence de bactéries qui fournissent le plus souvent une réaction cytochrome-oxydase positive, dénotant la présence de ces hémoprotéines simples décrites par Kamen et ses collaborateurs.

Nous avons pu montrer que les isotopes marquant ces acides aminés se retrouvaient dans les oocystes et les sporozoïtes de *P. berghei*. Nous avons constaté aussi que les anophèles ayant absorbé des germes marqués au C 14 étaient imprégnés par ces substances, ce qui semble bien établir que les germes du tube digestif de l'anophèle interviennent dans le métabolisme de l'insecte.

Nous voudrions poursuivre ces recherches et retrouver ces protéines marquées chez les glossines, les triatomes et les puces qui les ont absorbées comme chez les parasites que ces arthropodes transmettent.

### Conclusions

1° Nous avons isolé des bactéries à partir du tube digestif des anophèles, des aedes, des culex, des triatomes et des puces qui tous sont des transmetteurs de protozoaires, que ce soit des *plasmodidae* ou des *trypanosomidae*.

2° Nous avons montré que la plupart des germes isolés sont des pseudomonas qui fournissent une réaction cytochrome-oxydase positive.

3° Nous avons montré que chez les anophèles et les aedes, les pseudomonas ne contrarient pas la sporogonie du *P. berghei* ou du *P. gallinaceum* et que chez les triatomas la présence des pseudomonas n'entravaient pas le cycle des flagellates.

4° Nous avons constaté que les coques et les klebsellia empêchaient la sporogonie et étaient capables de nuire à la vie des anophèles.

5° Nous avons établi enfin que les acides aminés marqués pouvaient être mis en évidence dans les oocystes et les sporozoïtes de *P. berghei* chez les anophèles qui avaient été nourris avec des pseudomonas marqués au C 14 et au Fer 59.

*Samenvatting* — De auteur beschrijft hoe hij ertoe gekomen is een rol te kennen aan de cytochrome oxydase positieve bacteriën die voorkomen in het darmkanaal der Anophelen, overbrengers van het Plasmodium der knaagdieren. Hij stelt bijaldien de aanwezigheid vast van bacteriën, die dezelfde cytochromoiden bevatten, in het darmkanaal der Culex en der Aedes die het Plasmodium der vogels kunnen overbrengen. Hij bestatigt ze eveneens in het darmkanaal van overbrengers van de Trypanosomidae, zoals de Glossinen, de Triatomen en de vlooien.

*Summary* — The author has shown how he was able to attribute a role to oxidase positive cytochrome bacteria which exist in the digestive tubes of anopheline transmitters of rodent plasmodia. He extended his researches and established the presence of bacteria possessing the same cytochromoids in the digestive tubes of Culex and Aedes which can transmit avian plasmodia. He also found them in the digestive tubes of vectors of trypanosomidae such as Glossinae, Triatomidae and fleas.

*Zusammenfassung* — Der Autor zeigt, wie es dazu gekommen ist, cytochromen, oxydasepositiven Bakterien eine bestimmte Rolle zuzuschreiben. Diese Bakterien kommen im Verdauungskanal von Anophelen vor, die Plasmodien der Nager übertragen. Bei einer Ausdehnung seiner Untersuchungen stellte der Verfasser das Vorhandensein von Bakterien mit den gleichen Cytochromoiden im Verdauungskanal von Culex und Aedes fest, die Plasmodien der Vögel übertragen können. Sie wurden auch im Verdauungskanal der Überträger von Trypanosomiden, wie Glossinen, Triatomen und Flöhen, gefunden.

*Resumen* — El autor muestra cómo se ha llegado a atribuir un papel a las bacterias citocromo-oxidasa positivas que existen en el tubo digestivo de los anofeles transmisores del plasmodio de los roedores. Extiende su campo de investigación y establece la presencia de bacterias poseyendo tales citocromoides en el tubo digestivo de los culex y aedes que pueden transmitir el plasmodium de los pájaros. De igual forma los encuentra en el mismo lugar de vectores de trypanosomidae, como las glosinas, los triatomas y pulgas.

Ce travail a été effectué au département de Protozoologie de l'Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold à Anvers et reçu pour publication le 8 juin 1967.

BIBLIOGRAPHIE

- Ambler, R. P., The purification and amino acid composition of « Pseudomonas » cytochrome C 551. *Biochem. J.*, 1963, **89**, 341-349.
- Atkin, E. E. et Bacot, A., The relation between the hatching of the eggs and the development of the larvae of *Stegomyia fasciata* (*Aedes calopus*) and the presence of bacteria and yeasts. *Parasitology*, 1917, **9**, 482-536.
- Bisoux, M., Présence de *Pseudomonas* cytochrome-oxydase positifs chez les *Aedes*. *C. R. Soc. Biol.*, 1966, **160**, 2228-2229.
- Bisoux, M., Présence de *Pseudomonas* chez les *Culex* autogènes et chez les *Culex* non autogènes. *C. R. Soc. Biol.*, 1966, **160**, 2507-2509.
- Burt, E., Salivation by *Glossina morsitans* on to glass slides: a technique for isolating infected flies. *Ann. Trop. Med. Paras.*, 1946, **40**, 141.
- De Klerk, H., Bartsch, R. G. et Kamen, M. D., Atypical soluble hem proteins from a strain of *Rhodospseudomonas palustris* sp. *Bioch. Biophys. Acta.*, 1965, **97**, 275-280.
- Deschiens, R., Le rôle de la flore bactérienne associée à l'amibe dysentérique dans l'amibiase. *Ann. Inst. Pasteur*, 1938, **61**, 5-28.
- Dias, E., Chagas Disease: A comparative study of the susceptibility of four natural vectors to the experimental development of *Schizotrypanum cruzi*, New York, 1939. Third International Congress for Microbiology, Report of Proceedings, 1940, 421-422.
- Fergusson, M. J. et Micks, D. W., Microorganismes associés avec les moustiques. I. bactéries isolées de l'intestin de l'adulte *Culex fatigans* Wiedeman. *J. Insect. Pathol.*, 1961, **3**, 112-119.
- Fujita, T. et Stao, R., Soluble cytochrome in « *Escherichia coli* ». *Bioch. Biophys. Acta.*, 1963, **77**, 690-693.
- Gonda, O., Traub, A. et Avi-Dor, Y., The oxidative activity of particulate fractions from mosquitoes. *Bioch. J.*, 1957, **67**, 487-493.
- Haeger, J. S., The non-blood feeding habits of *Aedes taenichynchus*. (*Diptera Gulicidae*) on Sanibel Island, Florida, *Mosquito News*, 1955, **15**, 21-26.
- Hinman, E. H., The role of bacteria in the nutrition of mosquito larvae. The growth-stimulating factor. *Amer. J. Hyg.*, 1933, **18**, 233-236.
- Hocking, B., The intrinsic range and spread of flight of insects. *Trans. R. Ent. Soc. Lond.*, 1953, **104**, 223-345.
- Isfan, T., Contribution à l'étude de la corrélation existant entre les protozoaires pathogènes et les infections microbiennes. *Arch. rum. Path. ex.* Bucarest, 1964, **23**, 407-416.
- Jadin, J., Les bactéries photosynthétiques pourpres peuvent-elles jouer un rôle dans la sporogonie des plasmidies? *Bull. Acad. Méd. Paris*, 1965, **149**, 170.
- Jadin, J., Du rôle des bactéries dans le tube digestif des insectes vecteurs des Plasmidies et des Trypanosomides. IX International Congress for Microbiology, Moscou, 1966, p. 325.
- Jadin, J., Vincke, I. H., Dunjic, A., Delville, J. P., Wery, M., Bafort, J. et Scheepers-Biva, avec la collaboration technique de Willaert E., Rôle des *Pseudomonas* dans la sporogonie de l'hématozoaire du paludisme chez le moustique. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1966, **59**, 514-525.
- Jadin, J., Wéry, M., Le Ray, D. et Gatti, F., Au sujet de la transmission de certains caractères biologiques chez les Trypanosomidae. *Bull. Acad. R. Sc. Outre Mer*, 1966.
- Jeffery, G. M., Blood meal volume in *Anopheles quadrimaculatus*, *A. albimanus* and *Aedes aegypti*. *Exp. Parasit.*, 1966, **5**, 371-375.

- Kamen, M. D., On bacterial « cytochromoïdes ». Acta Chem. Scand., 1963, **17**, S 41.
- Kamen, M. D. et Vernon, L. P., Comparative studies on bacterial cytochromes. Bioch. et Biophys. Acta, 1955, **17**, 10.
- Kartulis, S., Eimiges über die Pathogenese der Dysenteriamöben. Z. bl. Bakt., 1891, **9**, 365-372.
- Lamy, L. et Piechaud, D., Utilisation de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques pour l'étude du rôle des bactéries dans la détermination de l'enkystement spontané d'*Entamoeba histolytica* en culture. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1963, **104**, 141.
- Laytha, L. G., Technique de Stripping film. J. Phot. Sci., 1954, **2**, 130.
- Mathis, C., Sur le danger des infections intestinales à protozoaires aux armées. C. R. Soc. Biol. Paris, 1918, **81**, 1041-1043.
- Perez-Reyes, R., *Anopheles aztecus* (Hoffmann, 1935) a new definitive host for the cyclical transmission of *Plasmodium berghei* Vincke and Lips, 1948. Jl. of Parasit., 1953, **39**, 603-604.
- Piron, E., Communication personnelle.
- Ramakrishnan, S. P., Satya Prakash, Krishnaswami, A. K. et Mohan, B. N., Studies of *Plasmodium berghei* Vincke et Lips, 1948. A critical analyses of experimental mosquito transmission. Ind. Jl. Malariology, 1953, **7**, 57-81.
- Reynolds, D. G., Infection of *Culex fatigans* with a microsporidian. Nature, 1966, **210**, 967.
- Rodhain, J., La disparition du paludisme et l'état actuel de l'anophélisme en Belgique. Documentation médicale, 1945, **1**, 1-11.
- Rodhain, J. et Vincke, I. H., Essai d'évolution du *Plasmodium berghei*. (Vincke et Lips) chez *Anopheles maculipennis* (var. *atroparvus*). Ann. Soc. belge Méd. trop., 1951, **31**, 197-301.
- Rodhain, J. et Vincke, I. H., Note au sujet de l'évolution du *Plasmodium berghei* chez *Anopheles maculipennis*, var. *atroparvus*. Ann. Soc. belge Méd. trop., 1952, **32**, 165-167.
- Rodhain, J., Wanson, M. et Vincke, I. H., Essai de transmission cyclique de *Plasmodium berghei*, 1955, **55**, 219-224.
- Roubaud, E. et Theillard, M., Un coccobacille pathogène pour les mouches tsé-tsés. C. R. Acad. Sci., 1935, **201**, 304-306.
- Vincke, I. H. et Lips, M., Un nouveau plasmodium d'un rongeur sauvage du Congo : *Plasmodium berghei*. Ann. Soc. belge Méd. trop., 1948, **28**, 97.
- Vincke, I. H., Bafort, J. et Scheepers-Biva, M., Observations récentes sur la transmission cyclique du *P. berghei*. Ann. Soc. belge Méd. trop., 1966, **46**.
- Wanson, M., Wolfs, I. et Lebiéd, B., Comportement d'*Anopheles* (*Myzomyia*) *moucheti* Evans. Rec. Trav. Soc. Méd. Congo Belge, 1947, **6**, 39.
- Yoeli, M. et Most, H., The biology of a newly isolated strain of *Plasmodium* vectors. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., 1960, **54**, 549-555.
- Yoeli, M., Most, H. et Boné, G., *Plasmodium berghei* : cyclical transmission by experimental infected *Anopheles quadrimaculatus*, Science, 1965, **144**, 1580-1581.
- Yoeli, M., Most, H. et Boné, G., The natural history of *Plasmodium berghei* in the field and under experimental condition. Ann. Soc. belge Méd. trop., 1965, **45**, 267-274.
- Yoeli, M. et Wall, W., Complete sporogonie development of *Plasmodium berghei* in experimental by infected anopheles. Nature, 1951, **168**, 1078.
-