

TEMPS DE SURVIE DE DIVERSES LIGNEES CONSANGUINES DE SOURIS INFECTEES AVEC DES FORMES METACYCLIQUES DE *TRYPANOSOMA BRUCEI*

par

F. DEMEY¹, A. M. MAKUMYAVIRI², R. VLIETINCK³, D. LE RAY² & A. VERHULST¹

¹Unité de Zootechnie Tropicale, ²Laboratoire de Protozoologie,
Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Nationalestraat 155,
B-2000 Antwerpen, Belgique

³Centrum voor Menselijke Erfelijkheid, K.U.L., Leuven, Belgique

Résumé — Le temps de survie de souris consanguines C57 BL/6J, CBA/ca, BALB/c, C3H/He et A/J, mâles et femelles, a été étudié après inoculation avec des formes métacycliques de *Trypanosoma brucei brucei* EATRO (AnTAR 1). Les souches consanguines testées se regroupent en trois niveaux de survie significativement distincts. Dans chaque souche les femelles survivent plus longtemps que les mâles. Les femelles CBA/Ca et C3H/He se sont caractérisées par un temps de survie significativement différent et une erreur standard de la moyenne de faible amplitude ($37,2 \pm 0,7$ jours pour CBA/Ca; $20,4 \pm 0,3$ jours pour C3H/He; $p < 0,002$). Ainsi, les femelles CBA/Ca et C3H/He sont retenues pour constituer un modèle expérimental d'étude des différents paramètres de mesure de la trypanotolérance envers *T. brucei*.

KEYWORDS: *Trypanosoma brucei*; Metacyclics; Inbred Mice; Survival Time.

Introduction

Les trypanosomiasés animales constituent un important facteur limitant pour l'élevage en Afrique. L'éradication des glossines est illusoire, la chimio-prophylaxie insuffisamment efficace et la vaccination impossible à cause de la grande variation antigénique des trypanosomes (10). La sélection et la multiplication d'animaux dits « trypanotolérants » retient l'attention des éleveurs.

La trypanotolérance peut se définir comme l'aptitude qu'ont certaines espèces, races ou individus à survivre et à se développer en zone endémique sans protection chimiothérapique.

La susceptibilité de l'hôte vertébré à la trypanosomiasé dépend de plusieurs facteurs, notamment la virulence du trypanosome et la capacité immunologique qu'a l'hôte de contrôler la population parasitaire présente dans l'organisme (14).

Les bases génétiques de la trypanotolérance ne sont pas encore élucidées. L'expérimentation sur ruminants domestiques se heurte jusqu'à présent aux difficultés du contrôle des facteurs environnementaux, à l'hétérogénéité génétique des animaux (souvent issus de croisements anciens) à l'infection pré-existante des ruminants d'expérience par trypanosomes en zone infestée et à l'absence de paramètres du niveau de trypanotolérance. Ces raisons nous ont incités à développer un modèle de laboratoire utilisant

des souches consanguines de souris soumises à une infection standardisée par des formes métacycliques de *T.b. brucei*.

Matériel et méthode

Parmi les souches consanguines de souris utilisées par d'autres auteurs travaillant sur la trypanosomiase expérimentale (1, 3, 4, 7, 9, 11, 12), nous avons retenu les lignées C57 BL/6J, CBA/Ca, BALB/c, C3H/He, A/J présentant un éventail de sensibilités différentes.

Les souris consanguines CBA/Ca, C3H/He, A/J (Iffa-Crédo, France) et C57 BL/6J (KUL, Belgique) furent élevées en condition IOPS (Indemnes d'organismes pathogènes spécifiques). Par contre les BALB/c (KUL, Belgique) furent élevées en animalerie conventionnelle. Dès leur réception à l'âge de 10 semaines les souris furent maintenues en quarantaine pendant deux semaines. Elles reçurent ad libitum eau et granulés sans coccidiostatiques. A l'âge de 12 semaines les souris furent inoculées à l'aide de formes métacycliques récoltées à partir de glandes salivaires de *Glossina morsitans morsitans*, infestées par *T. b. brucei* MAVUBWE/66/EATRO/1125 isolé en Uganda. L'entretien de ce stock de trypanosomes en laboratoire et les modalités de sa transmission cyclique ont été décrits dans un travail antérieur de Maku-myaviri *et al.* (8). Chaque souris fut inoculée par voie intrapéritonéale avec 500 trypanosomes.

Au cinquième jour suivant l'inoculation la présence d'une parasitémie fut vérifiée par examen microscopique de sang prélevé à la queue et elle fut quantifiée par la méthode du « matching method » selon Herbert et Lumsden (6). Les mortalités ont été relevées chaque jour. Les résultats obtenus sont analysés avec le test statistique de Mann-Whitney.

Resultats

Les résultats présentés dans le tableau 1 nous montrent que le temps de survie des souches de souris étudiées, tous sexes mélangés, varie de $33,8 \pm 2,0$ jours pour C57 BL/6J jusqu'à $16,6 \pm 1,4$ jours pour A/J.

Tableau 1

Temps de survie moyen des souris consanguines infectées avec des formes métacycliques de *T.b.brucei* EATRO 1125 (AnTAR 1), exprimé en jours \pm erreur standard par rapport à la moyenne (E.S.)

Souche	Individus $\sigma + \varphi$	Temps moyen de survie \pm E.S.	Individus σ	Temps moyen de survie \pm E.S.	Individus φ	Temps moyen de survie \pm E.S.
C57 BL/6J	18	$33,8 \pm 2,0$	8	$31,6 \pm 2,3$	10	$35,5 \pm 2,0$
CBA/Ca	18	$32,6 \pm 2,0$	10	$28,9 \pm 3,2$	8	$37,2 \pm 0,7$
BALB/c	20	$27,0 \pm 1,4$	10	$25,6 \pm 2,1$	10	$28,4 \pm 1,9$
C3H/He	21	$17,7 \pm 0,9$	11	$15,2 \pm 1,3$	10	$20,4 \pm 0,3$
A/J	20	$16,6 \pm 1,4$	10	$10,7 \pm 0,3$	10	$22,4 \pm 1,2$

Les souches C57 BL/6j et CBA/Ca présentent une résistance relative similaire alors que C3H/He et A/J sont d'une sensibilité approximativement équivalente. La souche BALB/c se comporte de manière intermédiaire. Les erreurs standards par rapport à la moyenne (E.S.) observées au sein d'une même souche, tous sexes mélangés, sont d'amplitude relativement faible et vont de 0,9 à 2 jours autour de la moyenne de survie selon la souche de souris. Dans chaque souche les femelles survivent plus longtemps que les mâles. Chez les femelles, l'erreur standard par rapport à la moyenne est particulièrement basse pour la souche plus résistante CBA/Ca (E.S. = 0,7) et la souche sensible C3H/He (E.S. = 0,3).

Discussion

La durée de survie de différentes souches de souris consanguines infectées avec des formes sanguicoles de *T. b. brucei* a déjà fait l'objet de plusieurs travaux expérimentaux (1,3,12). Ces études ont établi que, pour un même stock de trypanosomes la durée moyenne de survie dépend largement du patrimoine génétique de la souris.

Notre étude quant à elle, a été menée avec des formes métacycliques dans le but de reproduire le plus fidèlement possible l'infection naturelle.

Les souris consanguines testées se regroupent en trois niveaux de survie significativement distincts: C57 BL/6J et CBA/Ca diffèrent de BALB/c ($p < 0,05$) d'une part et de C3H/He et A/J ($p < 0,002$) d'autre part. Les différents niveaux de survie observés entre C57 BL/6J et CBA/Ca d'une part et C3H/He d'autre part concordent avec les niveaux de survie observés par Jennings (7) chez des souris consanguines apparantées (C57 BL, CBA et C3H) inoculées avec des formes sanguicoles de *T. b. brucei* (TREU 667). Par contre, la souche CBA/H inoculée avec des formes sanguicoles de *T. b. brucei* (S42 NIM6) se montre d'une résistance intermédiaire (3).

Les trois niveaux de survie observés parmi les souris consanguines testées dans notre laboratoire suggèrent que l'ensemble des réactions conditionnant le niveau de résistance à une infection primaire de *T. b. brucei* pourrait être sous la dépendance de plusieurs gènes. Par ailleurs, Morrison *et al.* (9) ont montré que la survie d'une souche relativement résistante (C57 BL/6J) inoculée avec *T. congolense* (5E-12) est également sous dominance polygénique. Par contre Pinder (11) inoculant la souche consanguine apparentée C57 BL/6 avec *T. congolense* (DINDEROSSO/80/CRTA/3), une souche de virulence modérée, observait que les souris surmontaient spontanément l'infection et que la trypanotolérance observée était sous dominance d'un seul gène autosomal. Ces observations suggèrent que la nature de l'infection trypanosomienne (espèce et souche de trypanosome) jouent également un rôle important, bien que Bradley (2) ait montré que la résistance relative de souches consanguines de souris n'est pas affectée par la nature des isolats spécifiques de *T. congolense*.

Conformément aux résultats obtenus par Pinder (11) avec *T. congolense* et par Greenblatt et Rosenstreich (4) avec *T. rhodesiense* le temps de survie moyen des femelles est plus long que celui des mâles. Le temps de survie moyen obtenu par nous en inoculant *T. b. brucei* est de $28,4 \pm 1,5$ jours pour

l'ensemble des femelles et de $21,9 \pm 1,5$ jours pour les mâles ($p = 0,0012$). Ainsi les femelles des races consanguines étudiées s'avèrent être plus tolérantes que les mâles. Au stade actuel de nos travaux, il est impossible de préciser s'il s'agit là d'une différence phénotypique ou génotypique. Par ailleurs, Greenblatt et Rosenstreich (4) ont démontré que le chromosome X n'a pas d'influence sur la survie de souches consanguines inoculées avec *T. b. rhodesiense*.

Les souris femelles CBA/Ca et C3H/He se caractérisent par des temps de survie significativement différents ($p < 0,002$) et des erreurs standards de la moyenne de faible amplitude. Ainsi, elles sont retenues dans nos laboratoires pour constituer un modèle expérimental d'étude du phénomène de trypanotolérance. Il est actuellement utilisé pour l'évaluation des différents paramètres de mesure de la trypanotolérance envers *T. brucei*.

La plupart des chercheurs utilisant une des souches C57 BL comme lignée résistante dans leur modèle de laboratoire pour l'étude de la trypanotolérance (1,7,9,11). Les souches C57 BL sont génétiquement très différentes d'autres lignées consanguines comme démontré par des études de polymorphisme génétique (13). La souche résistante CBA/Ca et la souche sensible C3H/He font actuellement l'objet d'une étude sérologique, biochimique, hématologique, histologique et physiologique comparée avant et après infection expérimentale par *T. brucei*. Le fait que ces 2 souches aient le même background génétique facilite grandement l'interprétation des résultats, particulièrement ceux des focalisations isoélectriques bidimensionnelles et des radio-essais d'extraits lymphocytaires.

Remerciements — Ce travail a bénéficié du support financier de la C.E.E. (contrat n° TSD-A-118-B/MR).

Survival time of various strains of mice infected with metacyclic forms of *Trypanosoma brucei*.

Summary — The survival time of various mouse strains (C57 BL/6J, CBA/Ca, BALB/c, C3H/He and A/J) of both sexes has been studied after being inoculated with the metacyclic forms of *Trypanosoma brucei brucei* EATRO (AnTAR 1). The inbred strains tested can be grouped in three distinct survival time levels and in each strain female mice lived longer than males. The females of CBA/Ca and C3H/He showed a significantly different survival time with a small standard error of the mean ($37,2 \pm 0,7$ days for CBA/Ca; $20,4 \pm 0,3$ days for C3H/He; $p < 0,002$). Therefore female CBA/Ca and C3H/He were retained as experimental models for the study of various parameters indicating trypanotolerance against *T. brucei*.

Overlevingstijd van verschillende inteelt-muizenstammen geïnfecteerd met metacyclische vormen van *Trypanosoma brucei*.

Samenvatting — De overlevingstijd van inteelt muizenstammen (C57 Bl/6J, CBA/Ca, BALB/c, C3H/He en A/J), zowel mannelijke als vrouwelijke dieren, werd bestudeerd na inoculatie met metacyclische vormen van *Trypanosoma brucei brucei* 1125 (AnTAR 1). De geteste inteeltstammen groepeerden zich in drie significant verschillende overlevingsperiodes. In elke inteeltstam overleefden de vrouwelijke dieren langer dan de mannelijke dieren. De vrouwelijke CBA/Ca en C3H/He muizen hebben significantief verschillende overlevingstijden en kleine standaardfouten van het gemiddelde ($37,2 \pm 0,7$ dagen voor CBA/Ca; $20,4 \pm 0,3$ dagen voor C3H/He; $p < 0,002$). Aldus werden de vrouwelijke CBA/Ca en C3H/He muizen weerhouden als experimenteel model ter bestudering van trypanotolerantieparameters ten opzichte van *T. brucei*.

Reçu pour publication le 11 avril 1985.

REFERENCES

1. Black SJ, Sendashonga CN, Lator PA, Whitelaw DD, Jack RM, Morrison WI, Murray M: Regulation of the growth and differentiation of *Trypanosoma (Trypanozoon) brucei brucei*

- in resistant (C57 BL/6J) and susceptible (C3H/He) mice. *Parasite Immunology*, 1983, 5, 465-478.
2. Bradly DJ : Genetic control of resistance to protozoal infections. *In* : Proceedings International Symposium Canadian Society for Immunology, London, Academic Press, 1980, 9-28.
 3. Clayton CE : *Trypanosoma brucei brucei* : Influence of host strain and parasitic antigenic type or infection in mice. *Exp. Parasit.*, 1978, 44, 202-208.
 4. Greenblatt HC, Diggs CL, Rosenstreich DL : *Trypanosoma rhodesiense* analysis of the genetic control of resistance among mice. *Infect. Immun.*, 1984, 44, (1), 107-111.
 5. Greenblatt HC, Rosenblatt DL : *Trypanosoma rhodesiense* infection in mice sex dependance of resistance. *Infect. Immun.*, 1984, 43, 337-340.
 6. Herbert WJ, Lumsden WHR : *Trypanosoma brucei* : a rapid « Matching » method for estimating the host's parasitemia. *Exp. Parasit.*, 1976, 40, 427-431.
 7. Jennings FW, Whitelaw PP, Holmes PH, Urquart GM : The susceptibility of strains of mice to infection with *Trypanosoma congolense*. *Res. Vet. Sci.*, 1978, 25, 399-400.
 8. Makumyaviri AM, Demey F, Claes Y, Verhulst A, Le Ray D : Caractérisation de la capacité vectorielle de *Glossina morsitans morsitans* (Diptera : Glossinidae) vis-à-vis de *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 1125 (AnTAR 1). *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1984, 64, (4), 365-372.
 9. Morrison WI, Roelants GE, Pearson TW, Murray M : Genetic control of susceptibility to *T. congolense* infection in inbred strains of mice. *In* : Function and structure of the Immune System, (Eds Müller-Ruchholtz, W., Müller-Hermelink, H.K.), New York, Plenum Publ. Corp., 1979, 709-714.
 10. Murray M, Morrison WI, Whitelaw DD : Susceptibility to trypanosomiasis : trypanotolerance. *In* : Advances in Parasitology, (Eds. Baker, J.R., Müller, R.), London, Academic Press, 1982, 21, 1-68.
 11. Pinder M : *Trypanosoma congolense* : Genetic control of resistance in mice. *Exp. Parasit.*, 1984, 57, 185-194.
 12. Selkirk ME, Sacks DL : Trypanotolerance in inbred mice : an immunological basis for variation in susceptibility to infection with *Trypanosoma brucei*. *Tropenmed. Parasit.*, 1980, 31, 435-438.
 13. Taylor BA : Genetic relationships between inbred strains of mice. *J. Hered.*, 1972, 63, 83-86.
 14. Tizard I : Resistance to trypanosome (Review paper). *In* : Nuclear techniques in the study of parasitic infections. Vienna, IAEA-SM-256/73, 1982, 87-93.