

## PERSISTANCE DU PLÉOMORPHISME ET PRÉSENCE DES FORMES MULTINUCLÉAIRES DANS L'INFECTION EXPÉRIMENTALE AVEC *T.b. BRUCEI*

J. A. DE DIEGO, C. ESCRIBANO, R. F. MAYER,  
J. REY CALERO, M. S. DE DIEGO et C. GAMALLO

**RÉSUMÉ.** Trente souris blanches, mâles SWISS NMRI (IOPS) ont reçu une inoculation intrapéritonéale avec des formes sanguines du *T.b. brucei* appartenant à la souche du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de l'U.A.M. (Univ. Autonome de Madrid), maintenue depuis 8 ans moyennant des passages d'une souris à l'autre.

Cette souche est originaire de l'Institut Pasteur de Paris. Une fois infectées, les souris ont été contrôlées moyennant des frottis colorés au GIEMSA durant l'évolution de l'infection (3-4 jours). Les différentes formes sanguines durant l'infection expérimentale ont été mesurées soigneusement tout en calculant la proportion de celles-ci chaque jour d'observation.

Les formes Slender augmentent selon le progrès de l'infection. Les formes Stumpy apparaissent 48 heures après l'inoculation ainsi que les formes multinucléaires.

On a pu également constater dans ce cas la présence des formes Stumpy en division.

**Mots-clés :** Trypanosome, Pléomorphisme, Formes multinucléaires.

**SUMMARY.** Thirty white male mice SWISS ICO NMRI (IOPS) were inoculated intraperitoneally with blood-forms of *T.b. brucei* of a strain belonging to the Laboratory of Parasitology of the Medicine Faculty of the U.A.M. (Autonom University of Madrid). This strain was preserved during 8 years through inoculation from mice to mice.

This strain was received from the Pasteur Institute from Paris.

Once infected the mice were submitted to a controle through GIEMSA coloured smears.

The various blood-forms registered during the experimental infection were carefully measured and also their proportional presence during the observation.

We could appreciate an augment of the Slender forms following the progress of the infection and the apparition of the Stumpy at 48 hours after the inoculation as well as the multinucleate forms. Stumpy forms in division were also observed.

**Key-words :** Trypanosome, Pleomorphism, Multinucleate forms.

---

Laboratorio de Parasitología, Departamento de Medicina Social y Preventiva, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid. Calle de Arzobispo Morcillo n° 4, 28034-Madrid, España.

Accepté le 20 février 1985.

## Introduction

Une des principales caractéristiques des Trypanosomes du groupe Brucei est la présence du pléomorphisme durant l'infection, phénomène qui se traduit par l'existence des formes trypomastigotes d'aspect varié ; quelques-unes présentent un petit kinétoplaste situé dans la partie postérieure du corps du flagellé (Hoare, 1972).

On sait également que la multiplication par fission binaire longitudinale se produit dans l'hôte Vertébré en donnant naissance à deux individus identiques.

Ces caractéristiques peuvent se modifier quand ces Trypanosomes sont maintenues durant longtemps moyennant des passages successifs chez des animaux de laboratoire.

Ces formes peuvent perdre dans un intervalle de 7 à 12 mois leur pléomorphisme et le kinétoplaste peut disparaître permettant l'apparition des formes diskinétoplastiques. Des formes hématiques neuves peuvent également être vues chez des hôtes Vertébrés (Molyneux et coll., 1983).

L'insecte vecteur peut inoculer dans le Mammifère hôte un mélange de formes métacycliques qui possèdent différents types de variantes antigéniques (Barry et coll., 1984 ; Crowe et coll., 1981 ; Evans et Ellis, 1983).

A partir de ce moment, les Trypanosomes, influencés par la réponse immunitaire se transformeront par mutation (les formes Slender en des formes Stumpy par vagues successives) (Vickerman et coll., 1982).

C'est pour cela que nous considérons que l'étude des souches longtemps maintenues dans des hôtes inhabituels peut apporter des données intéressantes au sujet de la biologie de ces Flagelles.

## Matériel et méthodes

Trente souris SWISS ICO : NMRI (IOPS). On a opté pour des mâles chez lesquels la résistance à l'infection est moindre (Greenblatt et Rosenstreich, 1984).

Avec l'inoculation intrapéritonéale, les souris ont reçu les formes hématiques de *T.b. brucei* étant soumis au contrôle moyennant des frottis colorés au GIEMSA et réalisés durant l'infection (1-4 jours).

Le sang était obtenu en coupant légèrement le bout de la queue désinfecté à l'alcool (Lumsden et coll., 1973).

Pour chaque préparation on a compté 200 champs microscopiques afin d'obtenir le pourcentage des différentes formes durant l'infection (Hecker et Brun, 1982).

Pour ce qui est de l'étude morphométrique, les paramètres suivants ont été pris en considération (Molyneux et Ashford, 1983) :

- L (longueur totale du corps, flagelle libre inclus),
- F (longueur totale du flagelle libre),
- A (largeur du corps),
- NA (distance entre le noyau et l'extrémité antérieure),
- NP (distance entre le noyau et l'extrémité postérieure).

Les mesures ont été réalisées sur les différentes formes rencontrées. (Slender, intermédiaires, Stumpy et multinucléaires).

En ce qui concerne les formes multinucléaires, on a mesuré les dimensions des trois premiers paramètres (L, F, A).

Ces données ont été analysées dans le micro-ordinateur Hewlett-Packard 85 afin d'obtenir la moyenne arithmétique, l'écart-type et l'intervalle de confiance à 95 % de la moyenne.

## Résultats

Les résultats de l'observation des différents paramètres sont indiqués dans les tableaux I et II.

TABLEAU I. — Intervalle de confiance (95 %) de la moyenne des valeurs morphométriques du *T. (T.) brucei brucei* ( $\mu\text{m}$ ).

Formes hématisques	L	F	A	NA	NP
Slender	19,3-20,4	5,7-6,4	1,6-2	5,6-6,2	5,9-6,5
Intermédiaires	22,6-24	3,8-4,5	3-3,4	7,3-8,3	7,4-8
Stumpy	16-19,5	1-3,3	4,5-5,3	6,8-8,7	4,6-6,4
Multinucléaires	25-28,2	1-3,3	4,6-6	—	—

L : longueur totale (flagelle libre inclus)  
 F : longueur du flagelle libre  
 A : largeur du corps  
 NA : distance noyau — extrémité antérieure  
 NP : distance noyau — extrémité postérieure.

TABLEAU II. — Valeurs morphométriques du *T. (T.) brucei brucei* ( $\mu\text{m}$ ).

Formes hématisques	L		F		A		NA		NP	
	$\bar{X}$	DT	$\bar{X}$	DT	$\bar{X}$	DT	$\bar{X}$	DT	$\bar{X}$	DT
Slender	19,85	1,5	6,06	0,835	1,81	0,389	5,93	0,723	6,23	0,723
Intermédiaires	23,28	1,83	4,16	0,800	3,21	0,457	7,85	1,346	7,38	0,700
Stumpy	17,75	2,98	2,50	1,359	4,87	0,696	7,79	1,625	5,54	1,492
Multinucléaires (3-6 noyaux)	26,57	1,98	2,14	1,440	5,28	0,857	—	—	—	—

$\bar{X}$  : moyenne  
 DT : déviation standard  
 L : longueur totale (flagelle libre inclus)  
 F : longueur du flagelle libre  
 A : largeur du corps  
 NA : distance noyau — extrémité antérieure  
 NP : distance noyau — extrémité postérieure.

La mesure des distances NA et NP (noyau-extrémité antérieure et noyau-extrémité postérieure) est la preuve de l'absence des formes hématiques postéro-nucléaires.

Les valeurs restantes facilitent l'identification des différentes formes : Slender longs et minces avec flagelle libre puis des formes en division (*fig 1 et 2*), Stumpy plus grosses et courtes, sans flagelle (*fig. 3*), ainsi que les formes Stumpy en division (*fig. 4 et 5*).

Finalement nous mentionnons les formes multinucléaires avec un numéro de noyaux qui oscille entre 3 et 6 (*fig. 6, 7 et 8*).

Le *tableau III* montre le pourcentage des formes mentionnées.

TABLEAU III. — Parasitémie et pourcentage des différentes formes de *T. (T.) b. brucei* observées durant l'infection.

Période de postinoculation	Parasitémie positive	Trypanosomes/mm <sup>3</sup>		% des formes observées dans le frottis				
		$\bar{X}$	DT	Slender	Interm.	Stumpy	Formes en division	Multinucléaires
24 heures	27 %	1 120	2.045	63 %	29 %	—	8 %	—
48 heures	100 %	68.080	72 572	68 %	22,6 %	1,3 %	7,4 %	1 % +
72 heures	100 %	556 230	485 202	73 %	13,5 %	2,6 %	9,5 %	2 % +

$\bar{X}$  : moyenne

DT : déviation standard

+ : Formes observées dans 12 % des frottis réalisés après l'inoculation 48 heures, et dans 30-40 % des frottis réalisés 72 heures après l'inoculation ; ces chiffres représentent leurs moyennes.

## Discussion

Dans notre infection expérimentale, on a pu mettre en évidence la forte virulence d'une souche maintenue pendant 8 ans dans le Laboratoire.

La parasitémie devient rapidement positive : dans 27 % des cas étudiés, les Trypanosomes apparaissent dans le sang périphérique 24 heures après l'infection. 48 heures après la positivité est de 100 %.

On sait aussi que des souches isolées de date récente produisent des parasitémies moins fortes et une survie plus grande des souris inoculées (Hoare, 1972).

On a pu observer sur la souche étudiée la perte du kinétoplaste (formes diskinétoplastiques) mais le maintien du pléomorphisme, ce qui est en contradiction avec certains auteurs (Hoare, 1972 ; Vickerman et Barry, 1982).

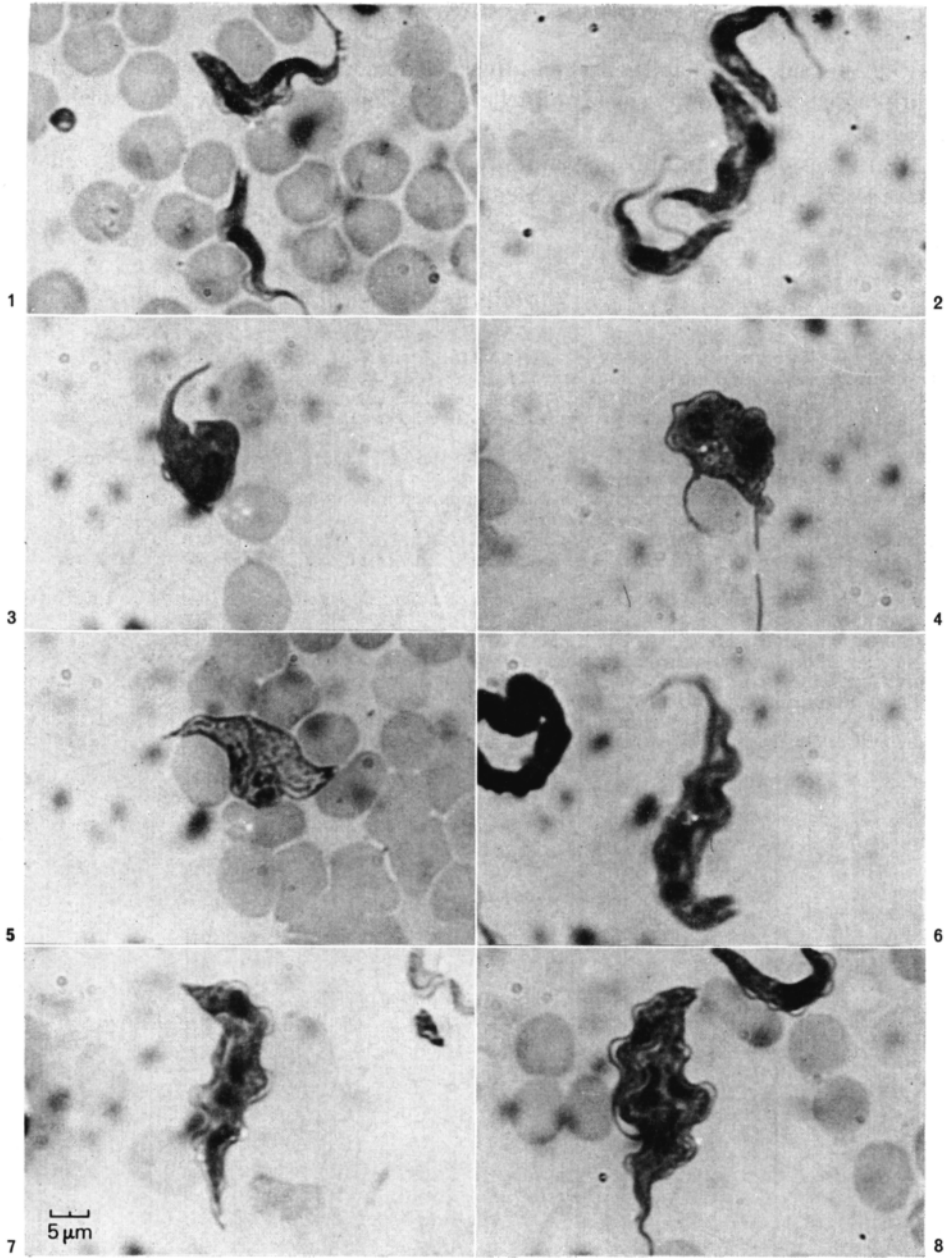


FIG. 1 à 8.

- Fig. 1.* — Deux formes Slender ; une d'elles en division binaire  $\times 1000$ .  
*Fig. 2.* — Trois formes Slender ; celle située au milieu de l'image en division  $\times 1000$ .  
*Fig. 3.* — Forme Stumpy  $\times 1000$ .  
*Fig. 4.* — Forme Stumpy en division ; on voit une courte membrane ondulante  $\times 1000$ .  
*Fig. 5.* — Forme Stumpy en division  $\times 1000$ .  
*Fig. 6.* — Forme multinucléaire ; observer la présence des trois noyaux  $\times 1000$ .  
*Fig. 7.* — Forme tétranucléaire ; on peut observer la présence d'une double membrane ondulante  $\times 1000$ .  
*Fig. 8.* — Forme multinucléaire de six noyaux comparée à une forme Slender  $\times 1000$ .

Les formes non habituelles en division démontrent un processus de fission multiple distinct de la division habituelle par fission binaire équivalente des formes Slender.

Enfin les valeurs morphométriques rencontrées diffèrent légèrement de celles de Hoare (1972) en ce qui concerne les Slender.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BARRY J. D., CROWE J. S., VICKERMAN K. : Instability of the *Trypanosoma brucei* rhodesiense metacyclic variable antigen repertoire. *Nature*, 1984, 306, 699.
- CROWE J. S., BARRY J. D., HAJDUK S. L., VICKERMAN K. : Monoclonal antibodies against variable antigen types of metacyclic *Trypanosoma brucei*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981, 75, 894.
- EVANS D. A., ELLIS D. S. : Recent observations on the behaviour of certain *Trypanosomes* within their insect host. *Adv. Parasitol.*, 1983, 22, 1.
- GREENBLATT H. C., ROSENSTREICH D. L. : *Trypanosoma rhodesiense* infection in mice : sex dependence of resistance. *Infect. Immun.*, 1984, 43, 337.
- HECHER H., BRUN R. : Comparative morphometric analysis of bloodstream and lymph forms of *Trypanosoma (T.) brucei brucei* grown *in vitro* and *in vivo*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1982, 76, 692.
- HOARE C. A. : *Trypanosomes of mammals. Blackwell Scientific Publications*, Oxford and Edimburg, 1972, 749.
- LUMSDEN W. H. R., HERBERT W. J., MCNEILLAGE G. J. C. : *Techniques with Trypanosomes. Churchill Livingstone*, Edimburg and London, 1973, 183.
- MOLYNEUX D. H., ASHFORD R. W. : *The biology of Trypanosoma and Leishmania, parasites of man and domestic animals. Taylor & Francis*, London et Philadelphia, 1983, 293.
- VICKERMAN K., BARRY J. D. : Immunology of parasitic infections (Cohen S., Warren K. S., eds). *Blackwell Scientific Publications*, Oxford, London et Edimburg, 1982, 848.