

POUVOIR DE DIFFUSION  
DE *TRYPANOSOMA GAMBIENSE*  
A TRAVERS DES MEMBRANES CELLULOSIQUES  
A PORES CALIBRÉS

Par J. PETITHORY, J. J. ROUSSET et F. GUIDON (\*)

La mensuration du diamètre des trypanosomes se pratique habituellement soit sur frottis coloré, soit entre lame et lamelle après fixation. Ce diamètre « visuel » présente, au point de vue de la biologie des trypanosomes dans l'organisme vivant, moins d'intérêt que le diamètre fonctionnel qui correspond au plus petit orifice à travers duquel le flagellé peut migrer.

Son étude au moyen de filtres Berkefeld V a conduit à des résultats contradictoires : NOVY et MACNEAL (2) ont obtenu dans trois essais sur neuf le passage de formes virulentes de *Trypanosoma lewisi*, cependant que WOLBACH, CHAPMAN et STEVENS (3) ont un résultat partiellement positif sur 24 expériences effectuées avec *T. brucei*, *T. gambiense* et *T. lewisi*. De toute manière, comme le font remarquer ces derniers auteurs, le problème n'est pas celui de l'existence de formes submicroscopiques de trypanosomes, mais concerne la possibilité pour les quelques formes les plus petites de passer à travers les filtres.

L'emploi de chambres de diffusion fermées par des membranes celluloseuses à pores calibrés permet maintenant de mesurer ce diamètre fonctionnel. HUFF et coll. (1) ont ainsi pu montrer que les formes exo-érythrocytaires de *Plasmodium gallinaceum* pouvaient traverser des pores de  $0 \mu 45$ . Nous avons entrepris de déterminer le diamètre fonctionnel d'une souche de *Trypanosoma gambiense*.

I. — TECHNIQUE

1) *Trypanosomes*. — La souche utilisée est la souche Casamance isolée par LARIVIÈRE, en 1956, et entretenue au laboratoire sur souris blanche. Sa virulence à l'égard de cet animal est très grande et bien fixée ; l'inoculation intrapéritonéale de 100.000 trypanosomes tue constamment la souris en 4 ou 5 jours.

2) Les *chambres de diffusion* sont constituées par des cylindres en lucite d'un diamètre intérieur de 0 cm. 75, d'une hauteur de 0 cm. 6, d'une capacité de 0 ml. 30 et percés d'un orifice latéral de

(\*) Séance du 10 novembre 1965.

0 cm. 1 de diamètre. Les deux faces sont fermées par collage de membranes celluloseuses (millipore) à pores calibrés.

Nous avons utilisé des membranes à pores de  $0 \mu 22 \pm 0,02$ , de  $0 \mu 45 \pm 0,02$ , de  $0 \mu 65 \pm 0,03$  et de  $0 \mu 80 \pm 0,05$  pour une épaisseur de  $150 \mu$ .

Les chambres de diffusion sont alors placées dans des boîtes de Petri, stérilisées par chauffage trois jours de suite pendant 1 heure à  $56^\circ$  et par une nuit d'exposition au rayonnement ultra-violet.

3) Le *liquide de dilution* est constitué par de l'eau physiologique stérile tamponnée à pH 7 environ et glucosée à 1 0/0, sa formule est la suivante :

ClNa. . . . .	7 g. 5
PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> K. . . . .	0 g. 2
PO <sub>4</sub> HNa <sub>2</sub> . . . . .	1 g. 5
Glucose . . . . .	10 g.
H <sub>2</sub> O distillée q. s. p. . . . .	1.000 ml.

Au moment de l'emploi, nous ajoutons par millilitre 1 mg. de chloramphénicol et d'actidione et 1.000 unités de pénicilline. Dans ce milieu, la survie des trypanosomes à la température du laboratoire est de 18 heures alors qu'elle n'est que de 4 heures en eau physiologique.

4) *Remplissage des chambres de diffusion.* — Des souris très richement infectées sont saignées par décapitation; le sang (environ 1 ml.) est recueilli dans 10 ml. d'eau physiologique tamponnée à laquelle on a ajouté quelques gouttes de citrate de soude à 4 0/0. Les chambres de diffusion sont remplies au moyen d'une seringue et d'une aiguille par l'orifice latéral qui est secondairement fermé par collage d'un fragment de filtre de même porosité que celui utilisé pour fermer les faces. Les chambres de diffusion contiennent ainsi 0 ml. 30 de sang de souris très riche en trypanosomes, soit environ 5 millions de flagellés.

5) *Mise en place des chambres de diffusion.* — Elle est effectuée par laparotomie sous lumière de Wood. Sont déposés dans la cavité péritonéale de la souris : une chambre de diffusion et 0 ml. 5 de solution d'antibiotiques polyvalents.

6) *Témoins.* — A la fin des séries de laparotomies, deux souris reçoivent 0 ml. 10 de la suspension trypanosomienne en milieu de survie pour vérifier la virulence constante de la souche et un examen microscopique confirme la persistance de la mobilité.

7) *Contrôles.* — Pendant quinze jours, le sang des souris est examiné tous les deux jours, puis ce contrôle devient hebdomadaire dans le mois qui suit.

Quelques chambres de diffusion sont retirées par laparotomie *in vivo* ou après sacrifice de l'animal pour étudier la survie des trypanosomes dans le corps de l'animal.

## II. — RÉSULTATS

1) *Diamètre fonctionnel*. — Les résultats globaux figurent dans le tableau ci-dessous :

Dimension des pores	Nombre total de souris en expérimentation	Décès par trypanosomiase	Décès par autres causes
220 m $\mu$	52	0	18
450 m $\mu$	21	0	1
650 m $\mu$	24	14	1
800 m $\mu$	21	21	0

Dans la colonne « Décès par autres causes », nous rangeons les animaux morts de complications mécaniques ou d'infections intercurrentes.

Ce tableau permet de constater que *Trypanosoma gambiense*, souche Casamance, filtre régulièrement à travers des pores de 0  $\mu$  80 est constamment retenu par les pores de 0  $\mu$  45 et environ une fois sur deux pour les pores de 0  $\mu$  65. Ceci délimite donc d'une façon assez précise le diamètre fonctionnel de cette souche.

2) *Survie in vivo*. — Sept chambres de diffusion ont été examinées de 1 à 15 jours après leur mise en place dans le péritoine de la souris. Toutes les chambres de diffusion étaient fermées par des membranes à pores de 0  $\mu$  22.

Les résultats sont les suivants :

Jours	Nombre	Survie
1	1	1
4	2	2
7	3	2
15	1	0

Les trypanosomes vivants étaient toujours en petit nombre et fréquemment en division, leur virulence, contrôlée par inoculation à des souris, était conservée.

La survie semble donc être de l'ordre d'une semaine et paraît limitée entre autres facteurs par la multiplication dans la chambre de diffusion d'éléments mononucléés provenant de la souris donneuse de parasites.

#### CONCLUSION ET RÉSUMÉ

L'emploi de chambres de diffusion fermées par des filtres cellulose à pores calibrés placés dans la cavité péritonéale de souris nous a permis de déterminer le diamètre fonctionnel de *Trypanosoma gambiense*, souche Casamance. Celui-ci se situe entre  $0\ \mu\ 45$  et  $0\ \mu\ 80$ , la survie dans les conditions expérimentales données en chambre de diffusion des trypanosomes est de l'ordre d'une semaine.

#### SUMMARY

Diffusion capacity of « *Trypanosoma gambiense* » through cellulose membranes with calibrated pores.

The use of small diffusion chambers with cellulose filters, placed in mice peritoneal cavities, permitted to determine the malleability (functional diameter) of *T. gambiense*:  $0.45$  to  $0.80\ \mu$ .

Laboratoire de Parasitologie et Mycologie.

Professeur : L. C. BRUMPT, Faculté de Médecine, 15, rue de l'École-de-Médecine, Paris (6<sup>e</sup>).

#### BIBLIOGRAPHIE

1. HUFF (C. G.), WAETHERSBY (A. B.), PIPKIN (A. C.) et ALGINE (G. H.). — The growth of exo-erythrocytic stages of avian malariae with diffusion chambers in different hosts. *Exp. Parasit.*, 1960, 9, 98-104.
2. NOVY et MACNEAL. — Studies from the Rockefeller Institute for medical research, 1907, 6, 375.
3. WOLBACH (S. B.), CHAPMAN (W. H.) et STEVENS (H. W.). — Concerning the filterability of trypanosomes. *They. of med. res.*, 1915, 33, 107-117.