

O. C. C. G. E.

O. R. S. T. O. M.

ORGANISATION DE COORDINATION ET
DE COOPERATION POUR LA LUTTE
CONTRE LES GRANDES ENDEMIES

I. R. T. O.

OFFICE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE
OUTRE-MER

INSTITUT DE RECHERCHES SUR LA TRYPANOSOMIASE ET L'ONCHOCERCOSE

"LE CONTACT HOMME-GLOSSINE : REACTIONS
IMMUNITAIRES A LA SALIVE DE GLOSSINE"

Par

PENCHENIER L.* TERRASSE C.** DIALLO B.P.*** EOUZAN J.P.****

N° 27/IRTO/RAP/84

* Parasitologiste de l'ORSTOM
** Pharmacienne en stage à l'OCCGE/IRTO
*** Biologiste de l'OCCGE
**** Entomologiste médical de l'ORSTOM

16.299

B

142

21 DEC. 1984
O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 16.299
Cote : B

L'existence d'une réaction de défense immunitaire vis à vis de la salive de glossine a été démontrée chez des animaux utilisés pour la nutrition de glossines d'élevage (NASH 1970; PARKER 1978, 1979). CHAIZE *et al.* (1981) ont, de leur côté, mis en évidence la présence d'anticorps dans des sérums humains en utilisant comme antigène des abdomens de glossines congelées. Leurs résultats font état de 10% de réactions positives en immuno-diffusion dans une population trypanosomée et 67% en ELISA.

La recherche d'un indicateur épidémiologique du contact Homme-Glossine, nous a fait reprendre cette étude en n'utilisant cette fois, comme le conseillent CHAIZE *et al.*, que les glandes salivaires des glossines, afin de voir si un matériel antigénique plus spécifique améliore les taux de positivité (TERRASSE, 1984).

MATERIEL ET METHODES

1°) Préparation de l'antigène salivaire

Il a été obtenu à partir de glossines d'élevage provenant du Centre de Recherches sur les Trypanosomiasés Animales (CRTA) de BOBO-DIOULASSO (Burkina-Faso). Les pupes ont été placées dans un insectarium jusqu'à éclosion. Les glossines ont été disséquées dès le premier jour de vie, sans être préalablement nourries. Les glandes salivaires ont été extraites par voie abdominale (PEN-CHENIER *et al.* 1981).

Une fois isolées, les glandes salivaires ont été conservées dans du sérum physiologique (à la concentration de 10 paires de glandes pour 0,1 ml de sérum physiologique).

Elles ont ensuite été broyées à l'aide d'un mortier en porcelaine. L'homogénat ainsi obtenu a été centrifugé pendant 5 mn à 3400 g. Le surnageant constitue l'antigène brut. Cet antigène est conservé au congélateur à -18°C.

Deux lots d'antigène ont ainsi été préparés :

- Ag A : préparé à partir de glandes salivaires de *G. palpalis* sl. ténérales.
- Ag B : préparé à partir de glandes salivaires de *G. tachinoides* ténérales.

II°) Immunoélectrophorèse

Elles ont été faites selon la microméthode sur lame de verre en agarose à 0,8% dans un tampon véronal à pH 8,2.

La migration s'effectue pendant 45 à 50 mm sous une différence de potentiel de 110 V et un ampérage de 30 mA et est suivie d'une diffusion de 4 à 6 jours. Les lames sont alors lavées au sérum physiologique pendant 3 jours, puis à l'eau distillée pendant une journée, et enfin séchées à température ambiante (27 à 30°C.) pendant une nuit. La coloration est faite à l'amido-Schwartz.

III°) Origine des sérums

Premier lot :

16 sérums humains proviennent de la région de DANANE (ouest de la Côte d'Ivoire).

Trois d'entre eux ont donné des réactions positives au CATT.

Deuxième lot :

32 sérums humains fournis par la sérothèque de l'OMS à DALOA (Côte d'Ivoire). Ce sont tous des sérums de sujets trypanosomés provenant de différentes ethnies (Mossi, Sénoufo, Gouro, Niaboua, Lobi).

Troisième lot :

2 sérums de témoins négatifs constitués par les sérums de deux Européens n'ayant jamais été en Afrique.

Quatrième lot :

1 sérum témoin positif. Il s'agit du sérum d'un lapin utilisé au Centre de Recherches sur les Trypanosomiases Animales de BOBO-DIOULASSO pour nourrir des *G. tachinoides* pendant trois mois.

RESULTATS

I°) Sérums témoins :

On note pour le sérum de lapin un arc de précipitation à migration

anodique. Cet arc est identique pour les deux antigènes A (préparé à partir de glandes salivaires de *G. palpalis sl.*) et B (préparé à partir de glandes salivaires de *G. tachinoïdes*).

Les deux sérums des témoins non piqués par les glossines ne montrent aucun arc de précipitation.

II°) Sérums testés :

Pour les 48 sérums testés, il n'a jamais été possible de mettre en évidence un arc de précipitation.

DISCUSSION

Dans l'étude de CHAIZE *et al.*, comme dans la nôtre, les trypanosomés provenaient du foyer de VAVOUA et les glossines étaient, pour partie, des *G. palpalis* du CRTA. Leurs résultats font état de 5 immuno-diffusion positives pour 50 sérums analysés, avec en immunoélectro-diffusion, la présence d'au moins 3 arcs de précipitation à migration anodique pour les 5 sérums positifs. Nos résultats, par contre, quoique nous ayons utilisé directement l'immuno-électro-diffusion, ne font état d'aucun arc de précipitation.

Avec les techniques employées, le matériel antigénique spécifique que constitue les glandes salivaires de glossines, ne permet pas de mettre en évidence une réaction immunologique face à la salive de glossine à moins que le contact avec les glossines ne soit intense comme c'est le cas avec le lapin témoin. Il est vraisemblable que les positivités obtenues à partir d'abdomens de glossine soient dues à la nature du matériel antigénique. Le mélange de protéines salivaires, digestives, génitales, musculaires qui le compose pouvant être à l'origine de positivités aspécifiques.

Quoiqu'il en soit les résultats obtenus semblent indiquer que la mise en évidence d'anticorps vis à vis d'un antigène salivaire de glossine, ne pouvait aboutir, en immuno-diffusion comme en immuno-électro-diffusion, à la détermination d'un indicateur épidémiologique du contact Homme-Glossine. Il peut en être différemment avec la technique ELISA, mais là aussi les résultats obtenus par CHAIZE *et al.* devraient être comparés avec ceux obtenus en utilisant les seules glandes salivaires comme antigène.

CONCLUSION

L'obtention d'arcs de précipitation en immunoélectrophorèse entre sérum humain et antigène salivaire de glossine, nécessite vraisemblablement un contact homme-glossine très intense. Cette technique ne peut donc servir comme indicateur épidémiologique de ce contact.

L'utilisation de techniques plus sensibles telles qu'E.L.I.S.A. devrait permettre d'obtenir un tel indicateur.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier ici les Dr. BAUER et DUVALLET qui nous ont fourni les pupes de glossines du CRTA ainsi que Monsieur COURET qui nous les a fait parvenir. Nous remercions également les Dr. PROD'HON et QUILLEVERE pour l'aide technique et les conseils qu'ils nous ont apportés.

BIBLIOGRAPHIE

CHAIZE, J., STANGHELLINI, A. et DEVOUCOUX, E. 1981

Antigène salivaire de glossine : intérêt de son utilisation dans l'immunologie de la THA.

OCCGE - DOC. TECH. N° 7679

NASH, T.A.M. 1970

Possible induction in goats of immunological tolerance against the saliva of uninfected tsetse flies (*Glossina* spp.)

Trop. Anim. Hlth Prod. 2 : 126-130

PARKER, K.R. 1978

Some effects of uninfected laboratory-reared tsetse (*Glossina morsitans morsitans* Westw.) (Diptera : Glossinidae) on host-rabbits.

Acta Trop. 35 : 345-355

PARKER, K.R. 1979

Serological respons in rabbits used to maintain uninfected, laboratory-reared tsetse (*Glossina morsitans morsitans* Westwood) (Diptera : Glossinidae).

CAN. J. ZOOL. 57 : 705-710

PENCHENIER, L. et ITARD, J. 1981

Une nouvelle technique de dissection rapide des glandes salivaires
et de l'intestin des glossines.

Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. et Parasitol., XIX, 1 : 55-57

TERRASSE, C. 1984

La trypanosomiase humaine en Afrique de l'Ouest, de l'immunisation
éventuelle vis à vis de la salive de glossine.

Thèse pharmacie - Université de ROUEN - UER mixte de médecine et de
pharmacie.

RESUME

Un indicateur du contact Homme-Glossine serait un outil extrêmement utile à la compréhension de l'épidémiologie de la trypanosomiase humaine Africaine, particulièrement en zone forestière et préforestière. L'existence d'arcs de précipitation en immunoelectrophorèse entre sérum d'animaux servant à nourrir des glossines et glandes salivaires de glossines a amené les auteurs à utiliser cette méthode vis à vis de sérums d'hommes piqués par des glossines (32 trypanosomés et 16 non trypanosomés). Aucun arc de précipitation n'ayant été décelé, les auteurs concluent que si cette technique permet de détecter des anticorps chez des individus intensément piqués, elle n'est cependant pas assez sensible pour servir d'indicateur épidémiologique du contact Homme-Glossine. Ils suggèrent de reprendre cette étude avec des techniques plus sensibles telle qu'E.L.I.S.A.

Mots-clefs : Trypanosomiase humaine - Glossines - Glandes salivaires - Immunologie
Contact Hommes/Glossines - Afrique de l'Ouest - Zone forestière.

SUMMARY

Salivary secretions of blood-sucking anthropods are antigenic and stimulate precipitin antibodies in host. The development of an immunologic diagnostic test of man-fly contact would be of considerable advantage for understanding sleeping sickness epidemiology in forested and pre-forested areas. Precipitating antibodies were demonstrated in sera from exposed rabbits to tse-tse, using immunoelectrophoresis. Using this method, the serum of men exposed to tse-tse flies (16 non infected and 36 infected with *T. brucei gambiense*) was tested.

No precipitin bands were observed and authors conclude that if this technique is appropriated for animals heavily exposed to tse-tse, there is a lack of sensitivity for low level exposure.

Additional experimental studies are obviously required with more sensitive techniques such as E.L.I.S.A.

Key-words : Human Trypanosomiasis - Tse-tse flies - Salivary glands - Immunology
Man/Tse-tse flies contact - West africa - Forest area.